

Tesi di Dottorato in Chimica e Tecnologia del Farmaco

Settore disciplinare: CHIM 08

XXIII Ciclo

“Sintesi e valutazione farmacologica di nuovi  
antagonisti dei recettori dell’adenosina”

Dott.ssa Daniela Poli

Supervisore

Dott.ssa Daniela Catarzi

Coordinatore

Prof.ssa Elisabetta Teodori

Dipartimento di Scienze Farmaceutiche

Università degli Studi di Firenze

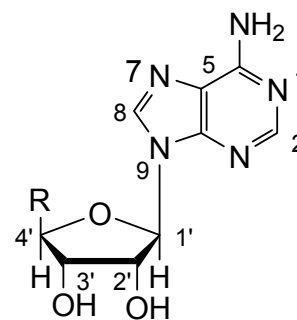
## INDICE

<b>1. INTRODUZIONE</b>	<b>2</b>
1.1 Adenosina: caratterizzazione biochimica e farmacologica	3
1.2 Farmacologia dei recettori dell'adenosina e possibili applicazioni terapeutiche di agonisti e antagonisti	7
1.2.1 Recettore A <sub>1</sub>	7
1.2.2 Recettore A <sub>2A</sub>	9
1.2.2.1 Farmacologia del recettore A <sub>2A</sub>	9
1.2.3 Recettore A <sub>2B</sub>	10
1.2.4 Recettore A <sub>3</sub>	11
1.2.4.1 Farmacologia del recettore A <sub>3</sub>	11
1.3 Ligandi dei recettori dell'adenosina	14
1.3.1 Agonisti	14
1.3.2 Antagonisti	20
1.3.2.1 Derivati xantinici	20
1.3.2.2 Derivati dell'adenina	22
1.3.2.3 Flavonoidi	23
1.3.2.4 Derivati triazolochinazolinici	24
1.3.2.5 Derivati pirazolo-triazolo-pirimidinici	24
1.3.2.6 Derivati biciclici a struttura non purinica	27
1.3.2.7 Derivati a struttura monociclica	28
<b>2. PREMESSE E OBIETTIVI</b>	<b>30</b>
<b>3. PARTE CHIMICA</b>	<b>43</b>
<b>4. RISULTATI E CONCLUSIONI</b>	<b>67</b>
<b>5. PARTE SPERIMENTALE</b>	<b>94</b>
<b>6. BIBLIOGRAFIA</b>	<b>138</b>
<b>SAN FRANCISCO STATE UNIVERSITY</b>	<b>143</b>

# **1. INTRODUZIONE**

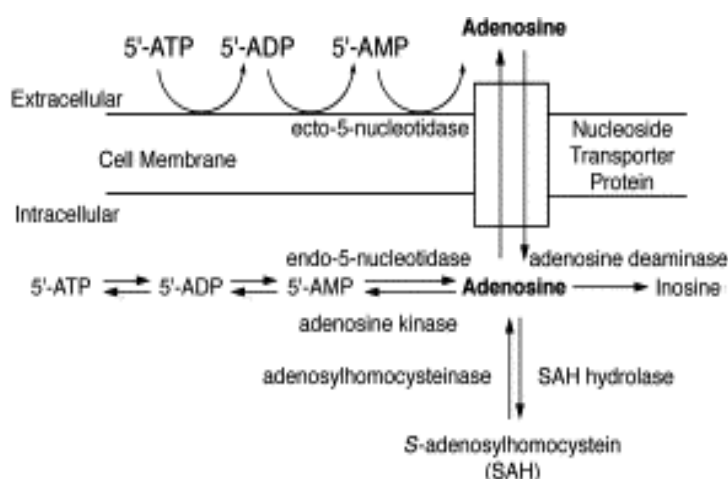
## 1.1 Adenosina: caratterizzazione biochimica e farmacologica

L'**adenosina** è un nucleoside endogeno costituito da un sistema purinico (adenina) legato ad una porzione zuccherina (ribosio) attraverso un legame  $\beta$ -N<sup>9</sup>-glicosidico (**Fig. 1**). Il suo ruolo nella regolazione del metabolismo energetico, esplicito sotto forma di 5'AMP, ADP, ATP, e nella sintesi degli acidi nucleici, è da tempo noto.



**Figura 1**

L'adenosina è prodotta in diversi tipi di cellule, dove raggiunge una concentrazione basale nell'ordine del  $\mu$ molare. Studi condotti su cellule cardiache di cavia hanno permesso di stimare che la concentrazione di adenosina endogena nei fluidi interstiziali sia compresa tra 0,1 e 0,3  $\mu$ M.<sup>[1]</sup> La sua biosintesi segue principalmente due vie (**Fig. 2**):



**Figura 2:** Principali vie di metabolismo e trasporto dell'adenosina

La prima, che avviene sia a livello intra- che extra-cellulare, prevede una serie di reazioni di idrolisi a cascata che, a partire da 5'-ATP conducono in sequenza a 5'-ADP, 5'-AMP ed adenosina. La seconda via di sintesi, invece, è esclusivamente intracellulare e consiste nella conversione enzimatica della S-adenosilomocisteina in adenosina.

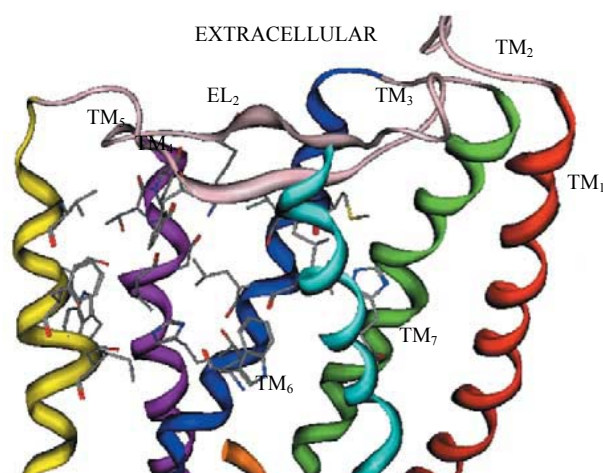
L'adenosina è trasportata all'esterno, dove interagisce con specifici recettori localizzati sulla superficie esterna della cellula, attraverso un meccanismo di diffusione facilitato,

tramite una proteina di trasporto nucleoside-specifica. Il tempo di vita dell'adenosina in circolo è dell'ordine di pochi secondi: questa rapida degradazione fa sì che l'adenosina agisca localmente, vicina al sito da cui è stata rilasciata.

L'eliminazione dell'adenosina dall'ambiente extracellulare avviene principalmente mediante:

- a) diffusione facilitata all'interno della cellula (attraverso una proteina di trasporto nucleoside-specifica) o per trasporto attivo. Una volta all'interno, può subire un processo di deaminazione che converte l'adenosina in inosina ad opera dell'enzima adenosina deaminasi, oppure l'attacco dell'enzima adenosina Kinasi a dare 5'-AMP;
- b) conversione in inosina ad opera dello stesso enzima adenosina deaminasi già a livello extracellulare.

Come regolatore delle funzioni metaboliche, l'adenosina si accompagna ad altri derivati nucleotidici come ATP, ADP, AMP, AMPc. E' un importante neuro-modulatore sia a livello del sistema nervoso centrale (SNC) che periferico ed esplica le sue funzioni fisiologiche interagendo con quattro sottotipi recettoriali, individuati grazie a studi farmacologici e di biologia molecolare. I sottotipi A<sub>1</sub>, A<sub>2A</sub> e A<sub>2B</sub>, i primi ad essere identificati, erano stati inizialmente scoperti e classificati sulla base di classici studi farmacologici, mediante binding di sostanze ad attività agonista ed antagonista. L'avvento di tecnologie di molecular cloning hanno permesso di approfondirne le caratteristiche strutturali e funzionali e di confermare ulteriormente la loro originale classificazione come distinti sottotipi recettoriali<sup>[1]</sup>. La scoperta dell'ultimo sottotipo, il recettore A<sub>3</sub>, ha seguito invece il percorso contrario: gli studi di biologia molecolare per primi hanno evidenziato la diversità di struttura di questa proteina recettoriale rispetto ai recettori precedentemente individuati, e solo in un secondo tempo i dati farmacologici hanno confermato l'esistenza di un nuovo sottotipo recettoriale. Tutti e quattro i sottotipi appartengono alla superfamiglia dei recettori accoppiati alle proteine G<sup>[2,3]</sup>. Sono infatti caratterizzati da una singola catena polipeptidica, con struttura ad elica, che attraversa sette volte la membrana plasmatica (TM1-TM7). In **Figura 3** è riportato il modello del recettore hA<sub>3</sub> proposto da S. Moro et al.<sup>[4]</sup>.



**Figura 3**

L'allineamento delle sequenze amminoacidiche dei domini transmembrana dei recettori di diverse specie animali ha mostrato che esiste un elevato grado di conservazione a livello dei domini TM2, TM3 e TM7. Per questo motivo è stato ipotizzato che a quel livello si trovino i siti d'interazione dei ligandi adenosinici. Dal confronto delle sequenze amminoacidiche dei recettori di diverse specie animali, si osserva che l'omologia è piuttosto elevata (compresa tra l'85% e il 95%) per tutti i sottotipi, ad eccezione dell'A<sub>3</sub> (**Tab. 1**), per il quale esiste solo il 74% di omologia di sequenza con il recettore di ratto e umano. Questa differenza significativa è probabilmente dovuta a un diverso processo evolutivo nelle due specie<sup>[1]</sup>.

Subtype	Overall % sequence homology	
A <sub>1</sub>	87	(canine-rat-human-bovine-rabbit)
A <sub>2A</sub>	82	(rat-canine)
	93	(human-canine)
A <sub>2B</sub>	86	(rat-human)
A <sub>3</sub>	74	(rat-sheep) (81 transmembrane)
	74	(rat-human) (82 transmembrane)
	85	(sheep-human) (92 transmembrane)

**Tabella 1:** Grado di omologia dei recettori dell'adenosina tra le varie specie

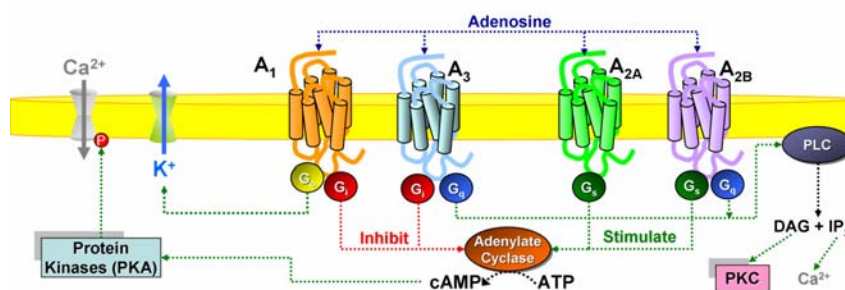
I meccanismi molecolari coinvolti nella mediazione degli effetti dell'adenosina sono stati identificati e ad oggi sono noti tutti i sistemi di accoppiamento recettore-effettore. Per la propagazione del segnale, i recettori si servono di differenti sistemi effettori quali

l'adenilato ciclasi (AC), la fosfolipasi C (PLC), la fosfolipasi D (PLD) o i canali ionici ( $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{K}^+$ ), e di secondi messaggeri come l'inositolo trifosfato ( $\text{IP}_3$ ) e l'AMPc<sup>[5-8]</sup> (Tab. 2).

RECETTORE	EFFETTO MEDIATO DALLA PROTEINA G
<b>A<sub>1</sub></b>	Inibizione AC: ↓ cAMP Attivazione PLC: ↑ $\text{IP}_3$ Canali $\text{K}^+$ : ↑ $\text{K}^+$ Canali Ca: ↓ $\text{Ca}^{2+}$
<b>A<sub>2A</sub></b>	Attivazione AC: ↑ cAMP
<b>A<sub>2B</sub></b>	Attivazione AC: ↑ cAMP Attivazione PLC: ↑ $\text{IP}_3$
<b>A<sub>3</sub></b>	Inibizione AC: ↓ cAMP Attivazione PLC: ↑ $\text{IP}_3$ Attivazione PLD

**Tabella 2:** Sistemi effettori dei recettori

Il legame dell'adenosina con un recettore specifico provoca una variazione nella conformazione della proteina G ed il distacco della subunità  $\alpha$  legata al GTP; in tal modo si attiva ( $G_s$ ) o si inibisce ( $G_i$ ) il sistema effettore accoppiato<sup>[10,11]</sup>, la cui natura dipende dal tipo di recettore<sup>[9]</sup> (Fig. 4).



**Figura 4:** Recettore accoppiato a proteine G-GTP dipendenti

## 1.2 Farmacologia dei recettori dell'adenosina e possibili applicazioni terapeutiche di agonisti e antagonisti

La molteplicità di azioni fisiologiche mediate dall'adenosina è dovuta all'ampia distribuzione tissutale dei suoi recettori, che sono comunque maggiormente concentrati a livello del SNC, cardiovascolare, renale, respiratorio ed immunologico (**Tab. 3**).

EFFETTI	A <sub>1</sub>	A <sub>2A</sub>	A <sub>2B</sub>	A <sub>3</sub>
<b>Centrali</b>	1) Sedativo- ipnotica 2) Anti-convulsivante 3) Antiansia 4) Deprimente l'attività locomotoria	Modulazione del rilascio di dopamina		Modulazione del danno neuro-degenerativo
<b>Cardio-vascolari</b>	1) ↓ Velocità di contrazione cardiaca 2) ↓ Forza contrazione cardiaca 3) Protezione da ischemia	Vasodilatazione	Vasodilatazione	Protezione da ischemia
<b>Renali</b>	1) Inibizione rilascio di renina 2) ↓ Velocità di filtrazione glomerulare	Aumento rilascio renina		Inibizione del rilascio renina
<b>Respiratori</b>	Broncocostrizione		Bronco-costrizione	Bronco-costrizione
<b>Immunologici</b>			Degranulazione mast-cellule	1) Immuno-soppressione 2) Degranulazione mast-cellule

**Tabella 3:** Azioni fisiologiche dell'adenosina

### 1.2.1 Recettore A<sub>1</sub>

Questo recettore è accoppiato a proteine G di tipo inibitorio (G<sub>i</sub>) e la sua attivazione determina una diminuzione dell'attività dell'adenilato ciclasi<sup>[2]</sup>. Più recentemente è stato inoltre scoperto l'accoppiamento con canali ionici e con la fosfolipasi C<sup>[5]</sup>.



L'ampia varietà di effetti biologici provocata dall'interazione dell'adenosina con il recettore  $A_1$  è dovuta alla vasta distribuzione di questo recettore nell'organismo (SNC e organi interni quali cuore, reni, fegato e vescica).

L'attivazione dei recettori  $A_1$  pre- e post-sinaptici presenti in tutte le aree cerebrali, ma soprattutto nell'ippocampo e nella corteccia cerebrale, determina un effetto sedativo-ipnotico, anticonvulsivante, antiansia e deprimente l'attività locomotoria. Questo è dovuto all'iperpolarizzazione neuronale, determinata dall'apertura dei canali del  $K^+$  e dalla chiusura di quelli del  $Ca^{2+}$ , che impedisce l'esocitosi di diversi neurotrasmettitori (acetilcolina, GABA, dopamina, glutammato e serotonina) dalle vescicole nello spazio sinaptico<sup>[12]</sup>. Questo ruolo nell'inibizione dell'esocitosi pre-sinaptica è risultato interessante nello studio del meccanismo di insorgenza degli attacchi epilettici: è stato osservato infatti che l'adenosina viene liberata in grosse quantità a seguito delle ripetute scariche depolarizzanti, e la conseguente inibizione del rilascio di neurotrasmettitori blocca la diffusione della scarica epilettica. L'osservazione di questo meccanismo endogeno di protezione ha aperto quindi nuove possibilità di intervento nel controllo dell'epilessia e del conseguente danno neuronale<sup>[13-15]</sup>.

A livello cardiaco agisce come potente agente inotropo e cronotropo negativo<sup>[16]</sup>: tali effetti sono dovuti in parte anche all'inibizione del rilascio di catecolamine da parte dell'adenosina. L'attivazione dei recettori  $A_1$ , ma anche degli  $A_3$ , sembra avere un ruolo nel fenomeno del "pre-condizionamento ischemico del miocardio"<sup>[16]</sup>, secondo cui l'ischemia breve (1-2 minuti) protegge il miocardio da un periodo successivo di ischemia prolungata nel tempo.

A livello renale, l'adenosina inibisce la secrezione di renina provocando vasocostrizione a diminuzione della velocità di filtrazione glomerulare.

Sono state inoltre osservate inibizione della peristalsi intestinale, della lipolisi e della regolazione della nocicezione sia a livello centrale che periferico. Quest'ultimo effetto è determinato dall'azione dell'adenosina che è in grado di sopprimere il dolore inibendo sia il rilascio del polipeptide CGRP nelle giunzioni trigemino-vascolari, che di quello di glutammato e sostanza P.

Considerati i diversi effetti mediati dai recettori  $A_1$ , saranno anche le possibili applicazioni terapeutiche di sostanze ad attività agonista e antagonista su questo sottotipo recettoriale. A livello del SNC, ad esempio, antagonisti selettivi per il recettore  $A_1$  potrebbero trovare impiego nella cura del morbo di Alzheimer, nel trattamento delle disfunzioni cognitive in genere e nella cura dell'ansia<sup>[17-19]</sup>.

A livello periferico,  $A_1$  agonisti inibiscono il rilascio di renina con conseguente effetto anti-ipertensivo: se accoppiati a diuretici risparmiatori di  $K^+$  portano ad effetti protettivi per i reni<sup>[2]</sup>.

Infine, sono ipotizzabili anche altre applicazioni di  $A_1$  agonisti, ad esempio nel trattamento di depressione, asma e nella prevenzione dell'ischemia.

### 1.2.2 Recettore $A_{2A}$

Questo sottotipo recettoriale si distingue dagli altri per lo scarso grado di accoppiamento con le proteine G<sup>[19]</sup>; dalla sua stimolazione deriva l'attivazione dell'adenilato ciclasi e conseguentemente l'aumento della concentrazione di AMPc intracellulare. In seguito all'interazione con l'agonista sono state osservate desensibilizzazione e fosforilazione dei recettori: per contatto prolungato, diminuiscono i livelli di adenilato ciclasi, si ha down-regulation delle proteine G di tipo stimolatorio e attivazione delle fosfodiesterasi. Al contrario, per somministrazione cronica di antagonisti, è stato descritto il fenomeno di up-regulation<sup>[19]</sup>.

#### 1.2.2.1 Farmacologia del recettore $A_{2A}$

**Sistema nervoso centrale.** I recettori  $A_{2A}$  sono localizzati prevalentemente nei gangli della base e sugli interneuroni del nucleo striato, stazioni importanti del sistema extra-piramidale: una riduzione dell'attività dopaminergica a questo livello è in gran parte responsabile del morbo di Parkinson. In questa regione si trovano anche i recettori dopaminergici  $D_2$ , con i quali i recettori  $A_{2A}$  formano complessi recettoriali. Antagonisti selettivi su questo sistema recettoriale  $A_{2A}/D_2$  producono una riduzione dell'attività dopaminergica riducendo i fenomeni di rigidità e tremore in modelli di Parkinson. L'attivazione del recettore  $A_{2A}$  inibisce inoltre il rilascio di dopamina, aggravando il deficit funzionale del sistema dopaminergico: ne consegue una diminuzione degli effetti della dopamina sull'attività motoria. Questo effetto spiega l'interesse per lo studio e lo sviluppo di antagonisti  $A_{2A}$  da utilizzare nella malattia di Parkinson<sup>[19-22]</sup>.

I recettori  $A_{2A}$  sembrerebbero coinvolti anche nella patogenesi della malattia di Huntington, in quanto sono localizzati sui neuroni che subiscono degenerazione in questa patologia. La loro attivazione porta ad un incremento dei livelli intracellulari di glutammato, per cui antagonisti selettivi del sottotipo  $A_{2A}$  potrebbero essere usati come

neuroprotettivi. Questa ipotesi è sostenuta anche da modelli animali dove il blocco selettivo dei recettori  $A_{2A}$  ha dato risultati positivi nel controllo della patogenesi della malattia di Huntington<sup>[23]</sup>.

La diminuzione della liberazione di dopamina ad opera di agonisti  $A_{2A}$ , offre anche nuove possibilità di approccio nella cura di ansia e schizofrenia<sup>[13]</sup>.

Infine alcuni agonisti selettivi  $A_{2A}$  sono in fase III come possibili agenti terapeutici nel danno acuto delle corna spinali (SCI)<sup>[24]</sup>.

**Azioni ad altri livelli.** Per interazione con i recettori  $A_{2A}$ , l'adenosina provoca una potente vasodilatazione cerebrale e quindi, regolando il flusso ematico, svolge un ruolo neuroprotettivo. Per attivazione di questi recettori si osserva, inoltre, inibizione dell'aggregazione piastrinica, proprietà questa che lascia ipotizzare un ruolo di questi recettori nelle malattie autoimmuni. Sempre nel sangue, l'adenosina blocca la proliferazione dei linfociti e dei linfoblasti, e stimola l'eritropoiesi.

### 1.2.3 Recettore $A_{2B}$

E' il meno caratterizzato fra i quattro sottotipi recettoriali. Analogamente al recettore  $A_{2A}$  è accoppiato a proteine G di tipo stimolatorio, ma a differenza dell'altro, è attivato da alte concentrazioni del ligande: è stato infatti ipotizzato che in condizioni di stress, quando la concentrazione di adenosina è maggiore di 20  $\mu$ molare ed i recettori  $A_{2A}$  sono desensibilizzati, l'attivazione dei recettori  $A_{2B}$  sopperisca alla conseguente diminuzione degli effetti<sup>[19]</sup>.

Questo sottotipo recettoriale è largamente diffuso a livello di intestino, vescica e fibroblasti, mentre risulta meno rappresentato nel cervello, cuore e polmoni. L'evidenza che i recettori  $A_{2B}$  siano implicati nel processo di degranulazione delle mastcellule, suggerisce che sostanze ad attività antagonista possano essere usate nella cura di disturbi quali l'asma. Studi recenti infine hanno mostrato che questo sottotipo recettoriale è coinvolto anche nel controllo della crescita cellulare. Quindi antagonisti selettivi di questo recettore possono essere utilizzati come antitumorali, e nella regolazione dell'omeostasi del glucosio<sup>[19]</sup>. L'interazione dell'adenosina con il recettore  $A_{2B}$  determina un aumento della secrezione di ioni  $Cl^-$  in cellule epiteliali intestinali, lasciando così ipotizzare una possibile applicazione degli antagonisti  $A_{2B}$  nella cura della diarrea secretoria<sup>[25,26]</sup>.

### 1.2.4 Recettore A<sub>3</sub>

Come detto precedentemente, la scoperta e caratterizzazione del recettore A<sub>3</sub> segue di qualche anno quella degli altri sottotipi ed è stata possibile grazie all'uso di tecniche di biologia molecolare. Tali tecniche hanno dimostrato che questo sottotipo recettoriale ha un'omologia di sequenza pari al 58% con i recettori A<sub>1</sub> e A<sub>2A</sub>, e si distingue da questi per le proprietà farmacologiche.

Il sottotipo recettoriale A<sub>3</sub> è accoppiato a proteine G di tipo inibitorio; quando attivato, causa inibizione dell'adenilato ciclasi e conseguente diminuzione dell'accumulo di AMPc<sup>[2]</sup>. Studi condotti alla fine degli anni '90 su cellule di tessuto cerebrale di ratto hanno mostrato che il recettore A<sub>3</sub> è anche coinvolto nell'attivazione della fosfolipasi C<sup>[27]</sup> e D<sup>[28]</sup>, e nell'incremento della concentrazione intracellulare di inositolo-1,4,5-trifosfato (IP<sub>3</sub>) e di Ca<sup>2+</sup>. Tale risposta conduce inoltre all'attivazione della protein chinasi C.

I recettori A<sub>3</sub> sono largamente distribuiti nell'organismo umano: sono altamente espressi a livello di fegato e polmoni, mentre ne è stata riscontrata una bassa densità in cervello, aorta, testicoli e reni<sup>[29]</sup>. A seconda poi della specie studiata, si possono trovare nella placenta, milza, utero, vescica, colon prossimale e occhi<sup>[29]</sup>.

Questo sottotipo recettoriale (come anche l'A<sub>2B</sub>) è a bassa affinità, per cui necessita di alte concentrazioni di adenosina (dell'ordine  $\mu$ molare) per essere attivato, concentrazioni che normalmente sono raggiunte solo in uno stato di ipossia o a seguito di un danno cellulare<sup>[30]</sup>. Questo lascerebbe ipotizzare un coinvolgimento del sottotipo A<sub>3</sub> in meccanismi di regolazione endogena in caso di severe condizioni di stress della cellula.

Studi condotti da Palmer et al. (1995)<sup>[31]</sup> hanno inoltre dimostrato la rapida desensibilizzazione del recettore umano A<sub>3</sub> a seguito dell'interazione con agonisti. Questo meccanismo sarebbe associato a un fenomeno di down-regulation delle proteine G dovuta a un processo di fosforilazione sia della stessa proteina G, sia della porzione C-terminale della proteina recettoriale<sup>[32]</sup>.

#### 1.2.4.1 Farmacologia del recettore A<sub>3</sub>

Studi di molecular cloning hanno evidenziato un basso grado di omologia strutturale tra il recettore A<sub>3</sub> dell'uomo e di altre specie animali, contrariamente a quanto osservato per gli altri sottotipi recettoriali. In accordo a questo dato, numerosi studi di binding su

recettori  $A_3$  hanno mostrato che l'affinità di molte classi di antagonisti è significativamente diversa nelle varie specie.

All'interno di una stessa specie, la varietà di effetti osservabili a seguito dell'interazione dell'adenosina col recettore  $A_3$  sono dovuti all'ampia distribuzione di questo recettore, mentre le diverse risposte biologiche che si osservano in vivo e in vitro, e che sono talvolta contrastanti tra loro, dipendono fortemente dal livello e dalla durata stessa dell'attivazione del recettore.

**Sistema Nervoso Centrale.** Molti studi hanno evidenziato il controverso ruolo del recettore  $A_3$  nei meccanismi di neurotrasmissione. I primi esperimenti in vitro su cellule corticali sane di ratto hanno dimostrato che la selettiva stimolazione dei recettori  $A_3$  provoca sia stimolazione che inibizione della neurotrasmissione eccitatoria. Questi effetti opposti possono quindi spiegare il motivo per cui l'attivazione di questo sottotipo in caso di ischemia cerebrale può risultare protettiva o deleteria per la vita cellulare<sup>[33]</sup>.

Numerosi lavori presenti in letteratura riportano studi a supporto di queste differenti evidenze. Ad esempio Von Lubitz et al.<sup>[34]</sup> dimostrarono, mediante differenti modelli di ischemia, come la somministrazione cronica intra-cerebroventricolare di agonisti  $A_3$  risultasse efficace nella protezione dal danno indotto chimicamente, ed anche la mortalità conseguente all'attacco epilettico fosse significativamente ridotta. Per ottenere questo effetto protettivo era cruciale la concentrazione dell'agonista: in colture di cellule astrogliali la somministrazione di sostanze in quantità nanomolari risultava efficace ai fini della protezione da danno ischemico, mentre il raggiungimento di concentrazioni  $\mu$ -molari causava spesso tossicità e favoriva la morte della cellula stessa<sup>[35]</sup>.

Più recentemente, A.M. Pugliese et al.<sup>[36]</sup> sfruttando un modello di ischemia in vitro costituito da cellule di ippocampo tenute in carenza di ossigeno e glucosio, hanno dimostrato che il blocco dei recettori  $A_3$  ad opera di antagonisti selettivi è in grado di ritardare o impedire la scomparsa irreversibile del potenziale sinaptico e che di conseguenza, può avere un effetto neuroprotettivo.

Il ruolo che il recettore  $A_3$  ricopre in caso di danno a livello neuronale deve essere ancora approfondito, ma in ogni caso il suo coinvolgimento nei meccanismi di protezione suggerisce che questo sottotipo possa rappresentare un potenziale target per l'intervento terapeutico in diverse patologie cerebrali. In particolare sembra che

antagonisti selettivi per il sottotipo  $A_3$  possano essere sviluppati come protettivi nell'ischemia cerebrale.

**Cuore.** Il recettore  $A_3$  è espresso nelle cellule ventricolari cardiache. Si è osservato che quando il cuore subisce un breve attacco ischemico ed una successiva riperfusione, diventa resistente all'infarto. Questo meccanismo endogeno di protezione è chiamato "ischemic preconditioning" e studi preliminari su modelli animali lasciavano ipotizzare il coinvolgimento dei recettori  $A_3$ <sup>[37]</sup>. In particolare nel coniglio, era stato osservato che la somministrazione di agonisti  $A_3$  potenziava la protezione contro il danno, sia reversibile che irreversibile, dovuto a ischemia acuta e riperfusione<sup>[38]</sup>.

Studi su cellule ventricolari cardiache umane hanno successivamente mostrato che la stimolazione del sottotipo  $A_3$ , contemporaneamente all'attivazione del recettore  $A_1$ , mima uno stato di "ischemic preconditioning" lasciando supporre che l'attivazione dei due recettori svolga un ruolo chiave nella mediazione del processo di cardioprotezione<sup>[39,40]</sup>.

Studi preliminari condotti su cellule cardiache di ratto hanno evidenziato il ruolo cruciale svolto dalla concentrazione dell'agonista. Le somministrazioni di quantità nanomolari innescano i meccanismi di cardioprotezione, mentre quantità dell'ordine micromolare degli stessi agonisti inducono apoptosi.

**Sistema Immunitario e proliferazione cellulare.** I recettori  $A_3$  presenti nelle mastcellule, quando vengono attivati, facilitano il rilascio di mediatori dell'infiammazione<sup>[41]</sup>. Nei pazienti asmatici, l'attivazione del sottotipo  $A_3$  produce una potente broncocostrizione<sup>[42]</sup>, dovuta a un potenziamento del rilascio di istamina da mastociti e basofili<sup>[43]</sup> ed alla liberazione di acetilcolina dalle terminazioni nervose vagali. L'adenosina extracellulare attiva l'adenilato ciclasi localizzata sulla membrana dei mastociti ed induce un effetto di feedback positivo che stimola nuovamente la degranulazione<sup>[13,44,45]</sup>. Sostanze ad attività agonista sul recettore  $A_3$  sono inoltre capaci di inibire la produzione di  $TNF-\alpha$  (cytokine tumor necrosis factor alpha), per cui è possibile ipotizzare che una stimolazione di questo recettore porti ad una potente azione antinfiammatoria utilizzabile nello shock settico o nel trattamento di malattie legate a fenomeni infiammatori<sup>[46]</sup>.

Ancora controverso e in fase di studio è l'effetto dell'interazione tra adenosina e recettori  $A_3$  sui processi che regolano la crescita e la proliferazione cellulare. Studi

recenti hanno dimostrato che l'espressione del sottotipo A<sub>3</sub> è molto più alta nelle cellule tumorali che in quelle sane e che la concentrazione di adenosina aumenti nei tessuti cancerosi. Inoltre, da numerosi esperimenti è risultato che differenti dosi sia di agonisti che antagonisti A<sub>3</sub> forniscano gli stessi effetti farmacologici, quali ad esempio l'inibizione della proliferazione cellulare<sup>[47,48]</sup>. Il chiarimento del ruolo dell'adenosina nella crescita tumorale potrebbe quindi aprire a nuove interessanti possibilità terapeutiche in questo campo.

**Azioni ad altri livelli.** A livello renale, antagonisti A<sub>3</sub> sono potenziali protettivi: infatti topi A<sub>3</sub>-knockout, o trattati con antagonisti, mostrano una significativa protezione da danni renali<sup>[49,50]</sup>.

Studi recenti hanno anche mostrato che antagonisti selettivi A<sub>3</sub> possono trovare applicazione nella cura del glaucoma<sup>[49]</sup> e del glioblastoma multiforme<sup>[51]</sup>.

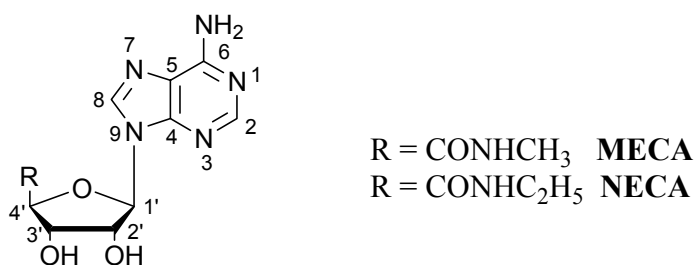
### **1.3 Ligandi dei recettori dell'adenosina.**

I recettori adenosinici presentano un'ampia distribuzione tissutale e sono coinvolti in numerosi processi biologici. Risultano quindi evidenti i possibili benefici che potrebbero derivare dallo sviluppo di agenti terapeutici utili per la regolazione degli effetti mediati dai suoi stessi recettori. Comunque, l'esistenza di quattro diversi sottotipi e la molteplicità delle risposte fisiologiche da essi mediate, richiede lo sviluppo di agonisti e antagonisti altamente selettivi affinché possano essere considerati terapeuticamente utili. Grazie alla grande varietà di composti sintetizzati e studiati, si sono potute ricavare le relazioni struttura-attività (SAR), che sono risultate particolarmente utili per capire quali sono i requisiti strutturali importanti per l'interazione con i vari sottotipi recettoriali e quindi per ottenere composti caratterizzati da elevata selettività verso un solo sottotipo.

#### **1.3.1 Agonisti**

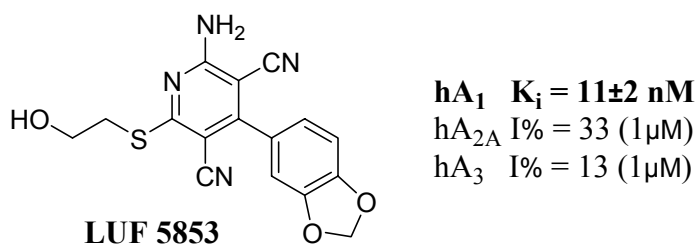
La ricerca di agonisti selettivi per i diversi sottotipi recettoriali è stata effettuata sia attraverso un approccio empirico che per mezzo di studi basati su procedure di molecular modeling<sup>[17,52]</sup>. Le molecole ottenute per modificazione della struttura chimica dell'adenosina sono quelle che ne mimano nel modo migliore l'attività (**Fig. 5**) I tentativi di funzionalizzazione di varie porzioni della molecola con gruppi dotati di

caratteristiche elettroniche e steriche diverse, ha messo in evidenza quali sono i requisiti fondamentali per mantenere o migliorare l'attività agonista. In generale si è osservato che la stereochimica dell'anello ribosidico<sup>[13]</sup> ed i gruppi ossidrilici in 2' e 3' devono restare inalterati, altrimenti si passa da agonisti ad antagonisti, mentre sono tollerate modificazioni sul gruppo idrossimetilico in 4'.



**Figura 5**

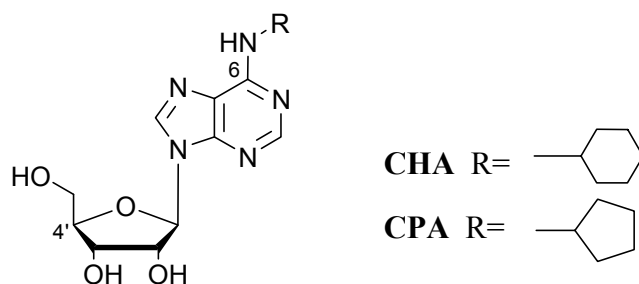
Infatti uno tra i primi composti sintetizzati (**NECA**, **Fig. 5**), presenta una funzione N-etilcarbrossiammidica sull'ossidrilico in posizione 5' e si è rivelato un potente agonista A<sub>3</sub>. Studi recenti hanno però dimostrato che la presenza del ribosio non è strettamente necessaria per mantenere l'attività agonista. Sono stati infatti identificati e progettati composti a struttura piridinica come il **LUF 5853** che risulta un agonista selettivo del recettore A<sub>3</sub> pur essendo privo del ribosio<sup>[53]</sup> (**Fig. 6**).



**Figura 6**

Nel caso dei derivati adenosinici va messo in evidenza che il gruppo amminico in posizione 6 è essenziale: può essere primario o secondario, come nella **CHA** (**Fig. 7**), mentre se è terziario i composti perdono attività. Per questo motivo si ipotizza la presenza di un sito accettore di protoni con cui questo gruppo interagisce tramite un legame a ponte di idrogeno<sup>[54,55]</sup>.

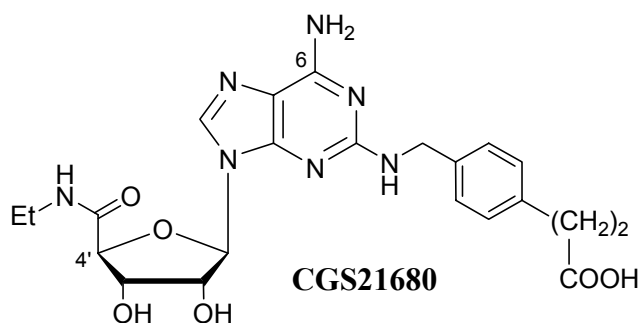




**Figura 7**

Per indirizzare l'attività verso il sottotipo  $A_1$  può essere utile l'introduzione di sostituenti cicloalchilici a 6 o a 5 termini all' $N^6$  dell'adenosina<sup>[55]</sup> (**Fig. 7**).

Per spostare invece l'attività sul recettore  $A_{2A}$  occorre modificare la posizione 4' del ribosio, inserendo un gruppo N-etilcarbossiammidico, e la posizione 2 del nucleo purinico, introducendo una catena ingombrante, ma lasciando inalterato il gruppo amminico primario in posizione 6<sup>[55]</sup> (**Fig. 8**). Queste modificazioni mantengono comunque elevata l'attività anche sul recettore  $A_3$ .

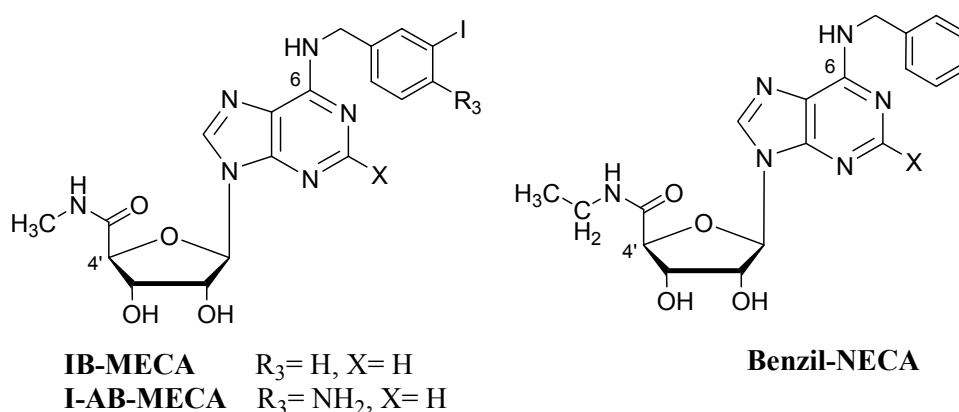


**Figura 8**

Per aumentare la selettività verso il recettore  $A_3$ , oltre alla funzionalizzazione in 4' con gruppi N-etilcarbossiammidici e N-metilcarbossiammidici (**Fig. 5**) si è rivelata utile anche l'introduzione di sostituenti arilalchilici sul gruppo amminico in posizione 6 (**Fig. 9**). I composti più interessanti in termini di selettività e affinità per il recettore  $A_3$  presentano entrambe le posizioni 4' e 6 sostituite. Inizialmente fu osservato che la sola funzionalizzazione della posizione  $N^6$ , ad esempio con gruppi benzilici o anelli cicloalchilici, riduceva l'efficacia dei composti determinando un'attività di agonismo parziale per il sottotipo  $A_3$ . D'altra parte, quando fu scoperto che la sostituzione del gruppo idrossimetilico in 4' con opportuni sostituenti poteva condurre a potenti derivati,

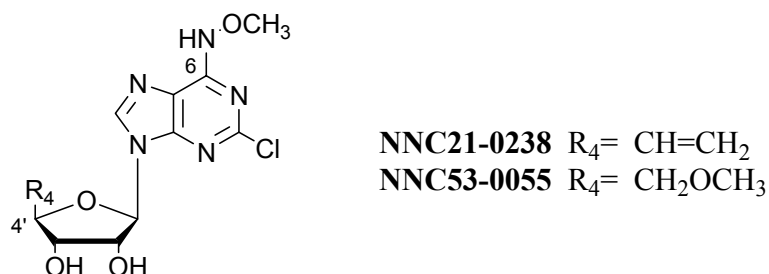
quali appunto la NECA, fu immediata l'idea di funzionalizzare contemporaneamente le due posizioni 4' ed N<sup>6</sup> (**Fig. 9**).

Composti quali la **benzil-NECA** (poco selettivo) e la **IB-MECA** (50 volte più selettivo per il recettore A<sub>3</sub> rispetto ai sottotipi A<sub>1</sub>/A<sub>2A</sub>) erano infatti largamente più potenti dei corrispondenti 5'-OH nucleosidi<sup>[56,57]</sup>. Il composto **I-AB-MECA**, (K<sub>i</sub> = 0.59 nM) è invece tutt'oggi utilizzato come radioligande (<sup>125</sup>I) per lo screening di nuovi ligandi del recettore A<sub>3</sub><sup>[55]</sup> (**Fig. 9**).



**Figura 9**

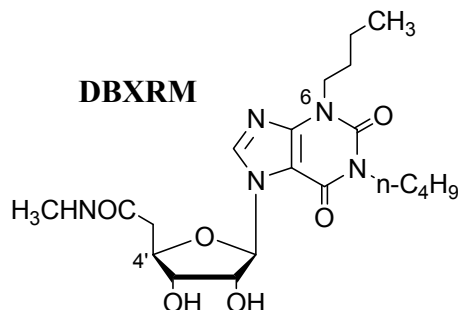
L'introduzione di piccoli sostituenti in N<sup>6</sup> (come -CH<sub>3</sub>, -OCH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>) ha portato a composti con un'alta affinità per il recettore A<sub>3</sub> umano: tra i derivati più interessanti, caratterizzati anche dalla presenza di diversi sostituenti di piccole dimensioni in 5', è importante ricordare **NNC21-0238** (K<sub>i</sub> = 20 nM) e **NNC53-0055** (K<sub>i</sub> = 4.6 nM)<sup>[57]</sup> (**Fig. 10**).



**Figura 10**

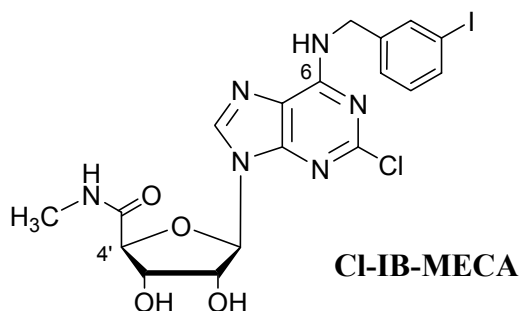
Anche l'introduzione di porzioni ureidiche in N<sup>6</sup> è risultata proficua nel potenziare l'attività A<sub>3</sub> agonista. Da questa osservazione, il passo successivo è stato la completa

rimozione dell'intero anello purinico e la sua sostituzione con un gruppo 1,3-dibutylxantinico che ha portato al derivato **DBXRM (Fig. 11)** ancora dotato di attività agonista, moderatamente potente ma molto selettivo<sup>[55]</sup>.



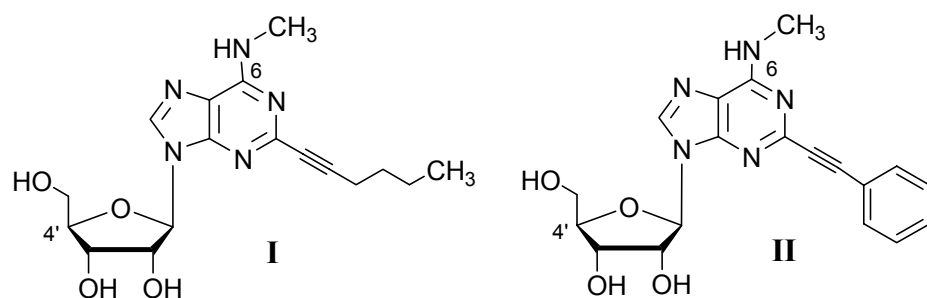
**Figura 11**

E' stato osservato che l'inserimento di un atomo di Cl in posizione 2 dell'anello purinico è in grado di aumentare l'affinità per il recettore  $A_3$ <sup>[59]</sup>. Il derivato **Cl-IB-MECA (Fig. 12)** è altamente selettivo e con un'affinità pari a  $K_i = 0.33$  nM per il recettore  $A_3$  del ratto.



**Figura 12**

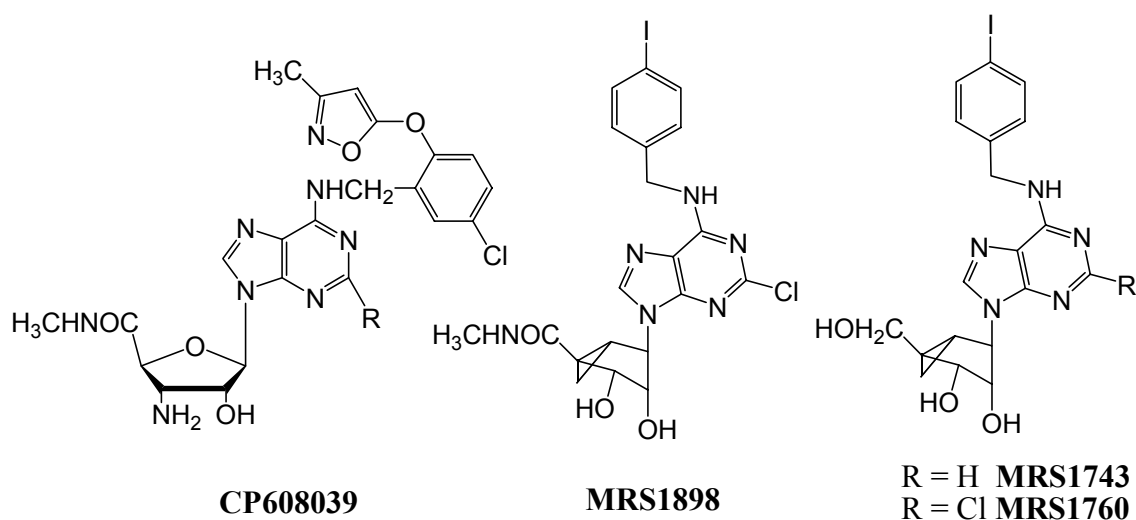
In altri casi, la presenza di residui lipofili in posizione 2, specialmente se combinati con un gruppo metilico in  $N^6$  (come in  $N^6$ -metil-2-(esinil)-adenosina e -2-feniletinil-adenosina) (**I** e **II**, **Fig. 13**) ha portato a composti potenti e selettivi per il recettore  $A_3$  umano<sup>[60]</sup>.



**Figura 13**

Per quanto riguarda la sostituzione dell'anello ribosidico, mentre l'ossidrile in 5' è risultato non indispensabile per l'attività sul recettore A<sub>3</sub>, al contrario gli ossidrili in posizione 2' e 3' devono essere mantenuti come tali per conservare la capacità di attivare il recettore e garantire un buon grado di affinità<sup>[61]</sup>. I primi tentativi di modificazione di questa porzione dell'anello hanno visto la sostituzione dell'ossidrile in 3' con un gruppo amminico: questa modifica, tollerata solo in presenza di opportuni sostituenti in posizione N<sup>6</sup>, è risultata vantaggiosa per migliorare la solubilità in acqua dei composti (**CP608039**, **Fig. 14**)<sup>[62]</sup>.

Successivamente altri studi hanno riguardato la sostituzione dell'anello ribosidico con l'analogo (N)-metanocarba (**Fig. 14**)<sup>[63,64]</sup>. Analogamente a quanto visto per i derivati portanti il ribosio, quando la posizione 5' dell'anello metanocarba è opportunamente sostituita (**MRS 1898**), il derivato presenta attività agonista, che invece diventa agonismo parziale nei corrispondenti 5'-OH analoghi (**MRS 1743** e **MRS1760**)<sup>[65]</sup>.



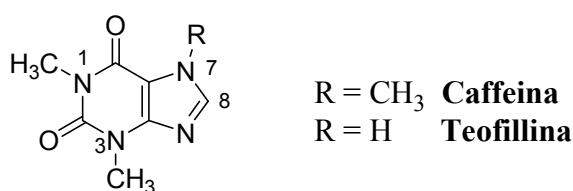
**Figura 14**

### 1.3.2 Antagonisti

Contrariamente a quanto visto per gli agonisti, gli antagonisti adenosinici appartengono ad una grande varietà di classi chimiche per le quali, proprio l'ampia differenza del "core" delle strutture rende difficile l'individuazione di requisiti strutturali comuni. In generale sono composti planari, ricchi di elettroni  $\pi$  e contenenti eterocicli azotati (più comunemente bicicli 6:5 e tricicli 6:6:5) sostituiti con gruppi di natura idrofobica. Infine, a differenza degli agonisti, mancano del ribosio.

#### 1.3.2.1 Derivati xantinici

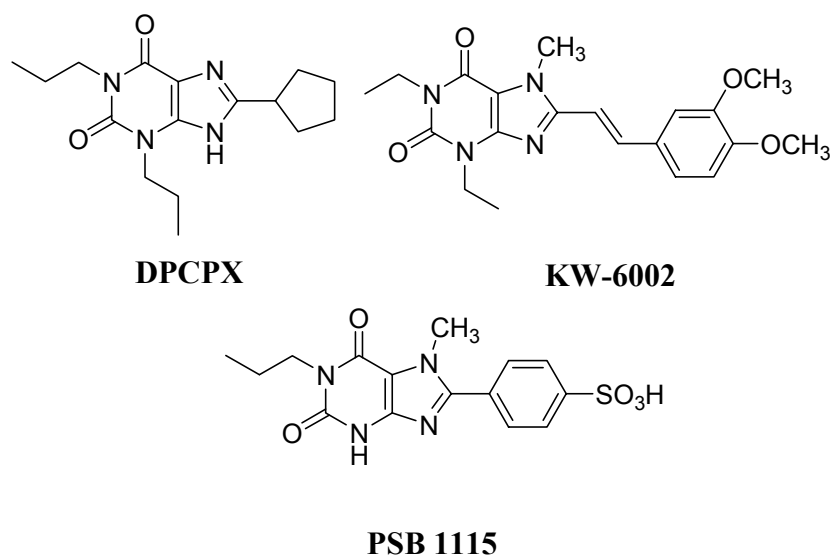
Sono stati i primi antagonisti riportati in letteratura e derivano da modificazioni degli alcaloidi **Caffeina** e **Teofillina** (**Fig. 15**). Queste sostanze presentano una bassa affinità per i recettori  $A_3$  del ratto e solo successivamente ne è stata invece dimostrata l'affinità per il recettore umano  $A_3$ , confermando il basso grado di omologia di questo tipo recettoriale nelle varie specie animali<sup>[66]</sup>.



**Figura 15:** Derivati xantinici

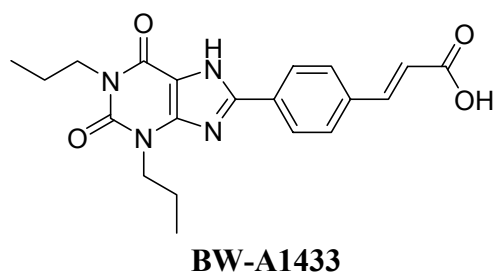
Attraverso l'opportuna funzionalizzazione delle posizioni 1, 3, 7 e 8, è possibile modulare l'attività sui diversi sottotipi recettoriali. In particolare, l'alchilazione degli azoti in posizione 1 e 3 con un gruppo N-propilico, produce un incremento di affinità per tutti i sottotipi recettoriali<sup>[67]</sup>.

La presenza di residui cicloalchilici in posizione 8 aumentano la selettività e l'affinità per il recettore  $A_1$  (**DPCPX**), mentre gruppi stirilici metossi-sostituiti spostano l'attività verso il sottotipo  $A_{2A}$  (**KW-6002**, **Fig. 16**). L'attività di binding per il recettore  $A_{2A}$  aumenta anche quando in posizione 7 è presente un gruppo alchilico. Invece la metilazione del gruppo amminico in 7 insieme all'introduzione di un sostituito fenilico in posizione 8, recante in para un gruppo acido, conduce a derivati attivi sul recettore  $A_{2B}$  (**PSB 1115**, **Fig. 16**)<sup>[68]</sup>.



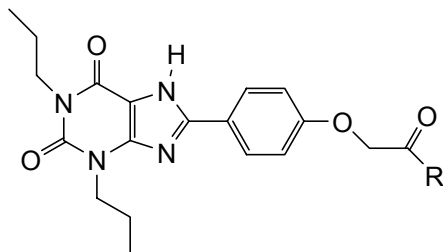
**Figura 16:** Modificazioni strutturali dei derivati xantinnici

Per spostare invece l'attività sul sottotipo  $A_3$ , l'azoto in posizione 9 non deve legare gruppi polari, tollerati invece su quello in 3. Il gruppo NH in posizione 7 sembra giocare un ruolo importante: l'introduzione di un sostituito a questo livello riduce drasticamente la capacità della molecola di legare il recettore  $A_3$ , lasciando ipotizzare la formazione di un legame a idrogeno tra il gruppo NH (donatore di protoni) ed un residuo aminoacidico del recettore<sup>[69]</sup>. Per ottenere una migliore affinità verso il recettore  $hA_3$  si è dimostrata importante anche la presenza di un gruppo fenilico in posizione 8, meglio se sostituito in para con gruppi acidi (ulteriore aumento di potenza). Tra le prime molecole sintetizzate è importante ricordare il derivato **BW-A1433** (Fig. 17)<sup>[70,71]</sup>, caratterizzato da un'elevata affinità e selettività verso il recettore  $hA_3$  rispetto a quello  $hA_1$ .



**Figura 17:** Derivato xantinico selettivo per il recettore  $hA_3$

Successive modificazioni strutturali in posizione para sul fenile in 8 hanno condotto alla sintesi dei composti **EP0978517** e **WO0012511** (**Fig. 18**) che mostrano alta affinità per il sottotipo  $hA_3$ <sup>[72,73]</sup>.

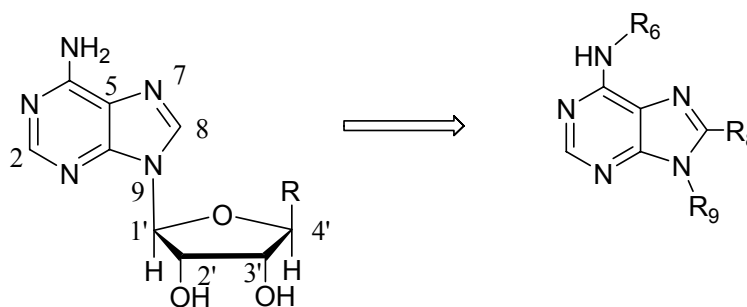


**EP0978517** R = NH<sub>2</sub>  
**WO0012511** R = NHCOCH<sub>3</sub>

**Figura 18:** Antagonisti del recettore  $hA_3$

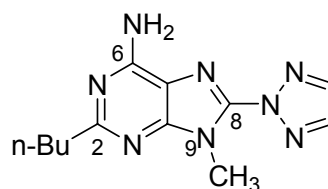
### 1.3.2.2 Derivati dell'adenina

Sono composti che derivano dall'eliminazione del ribosio dell'adenosina (**Fig. 19**), per i quali sono state osservate SAR simili a quelle viste per i derivati adenosinici ad azione agonista.



**Figura 19:** Derivati dell'adenina

In particolare, l'introduzione di un gruppo triazolico in posizione 8, contemporaneamente alla presenza di un gruppo metilico in 9 e n-butilico in 2, ha condotto a uno dei derivati più potenti di questa serie ad azione antagonista verso il recettore  $A_{2A}$  (**ST-1535**, **Fig. 20**)<sup>[74]</sup>.

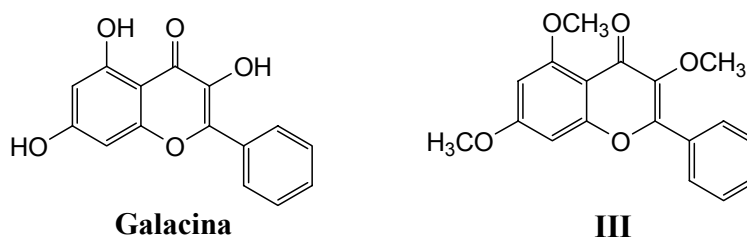


**ST1535**

**Figura 20**

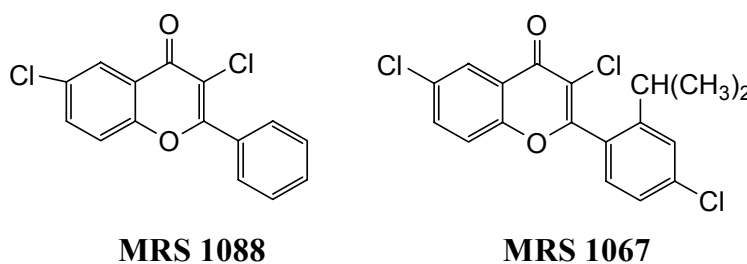
### 1.3.2.3 Flavonoidi

Queste molecole si sono rivelate buoni antagonisti sul recettore  $hA_3$ , con un'affinità dell'ordine micromolare. Studi di SAR realizzati su questa classe di composti naturali hanno indicato che i gruppi idrossilici della struttura flavonoidica non sono essenziali per l'attività sul recettore  $A_3$ . Partendo infatti dalla **Galacina** (**Fig. 21**) ( $K_i = 3 \mu M$  su  $hA_3$ ), la metilazione di tutti i gruppi OH (**III**, **Fig. 21**) ha portato ad un incremento di affinità per questo sottotipo recettoriale.



**Figura 21**

Risultati ancor più interessanti furono ottenuti con l'introduzione di atomi di cloro in posizione 3 e 6 (**Fig. 22**): i derivati **MRS 1088** e **MRS 1067** si sono infatti rivelati i composti di questa serie più potenti e selettivi per il recettore  $A_3$ <sup>[75]</sup>.

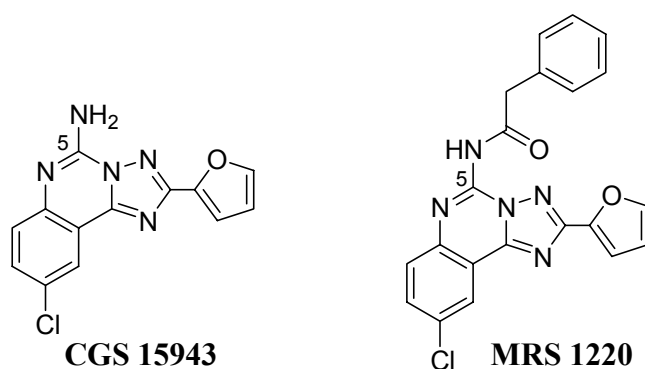


**Figura 22: Derivati dei flavonoidi**



#### 1.3.2.4 Derivati triazolochinazolinici

Questa classe di composti fu sviluppata in seguito all'osservazione che il derivato **CGS 15943** (**Fig. 23**) era in grado di legare il recettore  $hA_3$  con un'alta affinità ( $K_i = 14$  nM)<sup>[76]</sup>. Prendendo questo composto come lead, fu introdotto sul gruppo amminico in 5 vari residui, allo scopo di investigare quali requisiti strutturali ed elettronici fossero necessari al fine di ottenere composti affini e selettivi per questo sottotipo. Fu dimostrato che la funzionalizzazione dell'ammino in 5 con catene alchiliche incrementava l'affinità per il recettore  $hA_3$ , ma i composti rimanevano comunque attivi anche sui sottotipi  $A_1$  e  $A_{2A}$ . Solo con l'inserimento di gruppi acilici in quella posizione, fu possibile arrivare a derivati selettivi per il recettore  $hA_3$  (**MRS 1220**, **Fig. 23**)<sup>[77]</sup>.

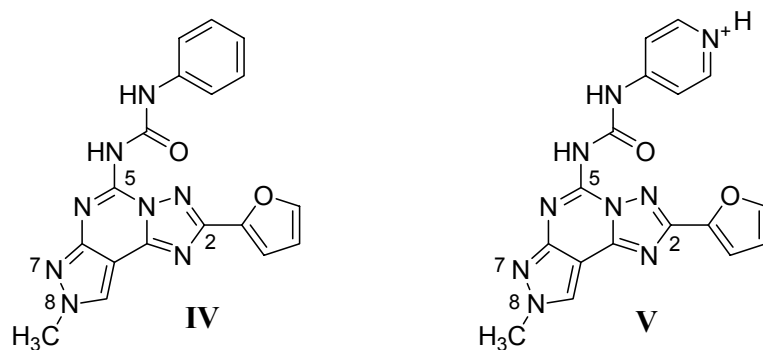


**Figura 23:** Derivati triazolochinazolinici

#### 1.3.2.5 Derivati pirazolo-triazolo-pirimidinici

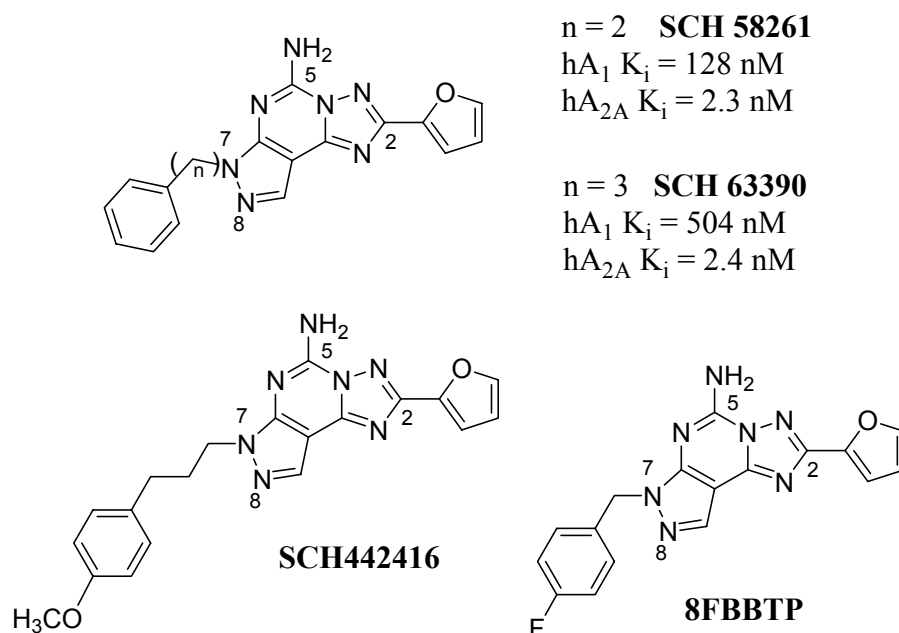
Le pirazolo-triazolo-pirimidine sono una delle classi più versatili che ha fornito antagonisti potenti e selettivi su recettore  $A_3$ <sup>[78,79]</sup> che su quello  $A_{2A}$ <sup>[80]</sup>.

Piccole catene alchiliche in posizione N-8 (ottimale è un gruppo metilico) e residui arilcarbamoilici sulla funzione amminica in 5 aumentano l'affinità e la selettività per il recettore  $A_3$ . Uno dei composti più potenti della serie è il derivato fenilcarbamoilico **VI** ( $K_i = 0.16$  nM, **Fig. 24**)<sup>[81]</sup>. Ulteriori studi su questa classe di composti hanno condotto alla sintesi del sale di piridinio **V**, caratterizzato da una buona solubilità in acqua (15 mM) ed elevata affinità per il recettore  $hA_3$  ( $K_i = 0.01$  nM)<sup>[82]</sup>.



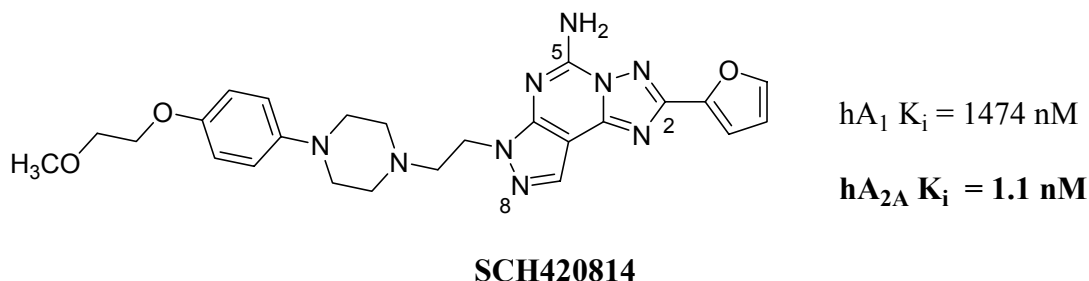
**Figura 24:** Antagonisti del recettore  $hA_3$

Mantenendo un gruppo acilico sull'  $NH_2$  in posizione 5 ed introducendo all' $N$ -8 gruppi lipofili a maggiore ingombro sterico, sono stati ottenuti derivati più attivi sul recettore  $A_{2B}$ , ma non selettivi. Al contrario, la non sostituzione del gruppo amminico in 5 e lo spostamento del sostituito lipofilo ingombrante (in particolare una catena fenilalchilica contenente da 2 a 3 gruppi metilenici) dall' $N$ -8 all' $N$ -7 ha prodotto una vasta serie di composti potenti e selettivi per il recettore  $A_{2A}$  di ratto ed umano (**SCH 58261** e **SCH 63390**, Fig. 25)<sup>[83]</sup>.



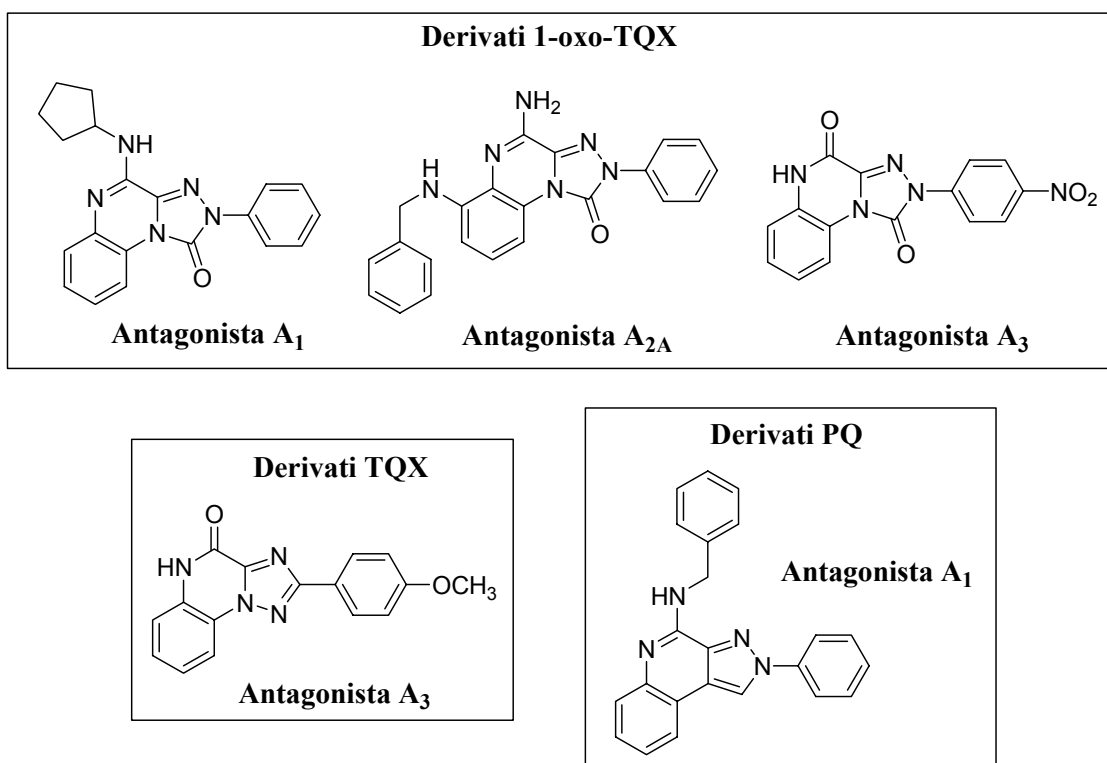
**Figura 25:** Antagonisti del recettore  $hA_{2A}$

La limitazione maggiore di questi antagonisti triciclici è la loro scarsa solubilità in acqua e, di conseguenza, la loro bassa biodisponibilità. Così, sono stati sintetizzati antagonisti A<sub>2A</sub> di seconda generazione dove, il fenile del gruppo arilalchilico in posizione 7 è stato funzionalizzato con gruppi idrofili. Sono stati introdotti idrossili e metossili in posizione para dell'anello fenilico, senza però raggiungere l'obiettivo prefissato, pur mantenendo alte affinità e selettività. Un aumento dell'idrosolubilità si è avuto con l'introduzione di un gruppo solfonico, a discapito però della potenza. Successivamente la catena arilalchilica in 7 è stata sostituita da una N-aril-N'-alchilpiperazina ottenendo una molecola selettiva e con una farmacocinetica favorevole: l'**SCH 420814 o Preladenant**<sup>[84]</sup> (**Fig. 26**).



**Figura 26**

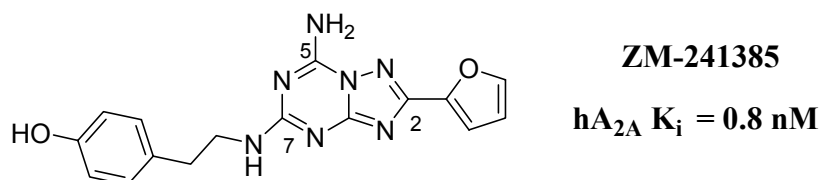
Con l'elaborazione delle SAR delle triazolo-chinazoline e delle pirazolo-triazolo-chinazoline, sono state sviluppate molte altre serie di composti che hanno mostrato elevata affinità e selettività per i vari sottotipi recettoriali. Tra queste, una serie molto versatile è quella delle 1-oxo-1,2,4-triazolo[4,3-a]chinossaline (**1-oxo-TQX**)<sup>[85-92]</sup> (**Fig. 27**), fra le quali è possibile trovare antagonisti potenti e selettivi dei recettori A<sub>1</sub>, A<sub>2A</sub> ed A<sub>3</sub>. Anche i nuclei 1,2,4-triazolo[1,5-a]chinossalinico (**TQX**)<sup>[71,93,94]</sup> e pirazolo[3,4-c]chinolinico (**PQ**)<sup>[95-97]</sup> (**Fig. 27**) rappresentano scaffold molto interessanti per l'ottenimento di antagonisti hA<sub>3</sub>, ma anche hA<sub>1</sub>.



**Figura 27:** Altri antagonisti triciclici dei recettori dell'adenosina

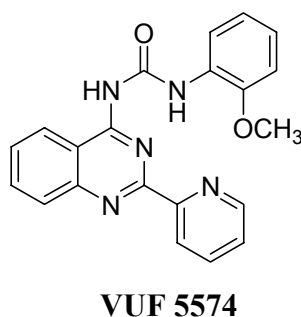
### 1.3.2.6 Derivati biciclici a struttura non purinica

Viste le problematiche farmacocinetiche dei composti triciclici, gli studi si sono orientati verso lo sviluppo di derivati di semplificazione molecolare a struttura biciclica, con l'intento di migliorarne la biodisponibilità. Lo sviluppo di antagonisti selettivi dei recettori dell'adenosina ha portato alla scoperta di leads con strutture piuttosto differenti, generalmente dotati di elevata affinità per il recettore hA<sub>2A</sub>. Ad esempio, l'eliminazione del nucleo benzenico dalla struttura del **CGS 15943** (**Fig. 23**) ha condotto a composti analoghi allo **ZM-241385**<sup>[21]</sup> (**Fig. 28**), uno tra i derivati più interessanti, a struttura 1,2,4-triazolo-triazinica. L'affinità A<sub>2A</sub> è legata alla presenza in posizione 2 del furano, della funzione amminica in 5, di una catena (etero)arilalchilamminica (spaziatore) in posizione 7, che può contenere uno o due gruppi amminici. Lo spaziatore ha la funzione di “allontanare” l'anello aromatico dal nucleo biciclico<sup>[21,98]</sup>.



**Figura 28:** Antagonista A<sub>2A</sub> selettivo

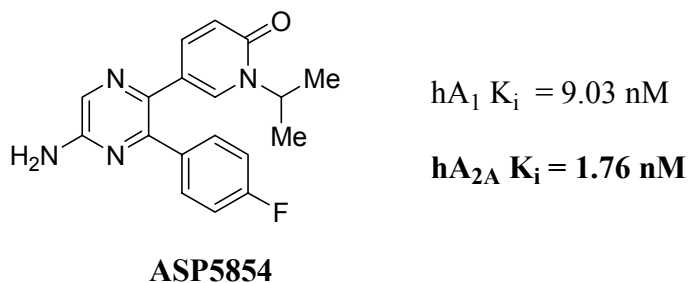
Da ricordare inoltre alcuni derivati biciclici a struttura chinazolinica dotati di elevata affinità e selettività per il sottotipo hA<sub>3</sub> (**VUF 5574**, **Fig. 29**), con una K<sub>i</sub> intorno a 3 nM<sup>[99]</sup>.



**Figura 29:** Antagonista hA<sub>3</sub> a struttura chinazolinica

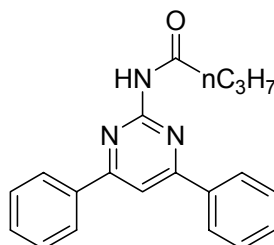
### 1.3.2.7 Derivati a struttura monociclica

Una vasta gamma di composti monociclici appartenenti a differenti classi chimiche quali pirazine, pirimidine, tiadiazoli e triazoli, sono attualmente in fase di studio come antagonisti dei recettori dell'adenosina. Fra questi, il derivato pirazinico **ASP5854** è risultato molto promettente in modelli preclinici di Parkinson (**Fig. 30**)<sup>[100]</sup>.



**Figura 30:** Derivato pirazinico

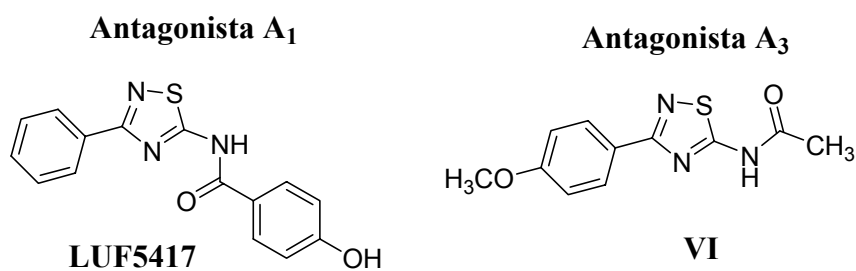
Invece da studi di modellazione molecolare è stato possibile progettare e sviluppare composti a struttura pirimidinica come antagonisti selettivi sul recettore  $A_1$  (LUF5735<sup>[101]</sup>, Fig. 31).



**LUF 5735**

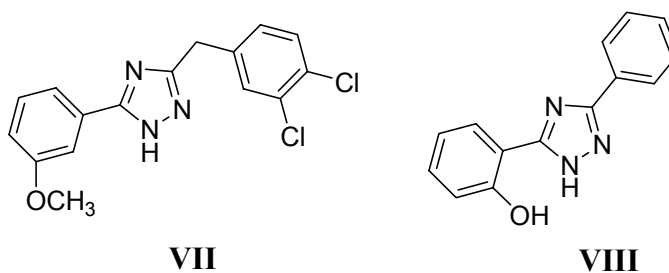
**Figura 31:** Antagonista  $A_1$  a struttura pirimidinica

Nella serie dei tiadiazoli (Fig. 32) si annoverano sia antagonisti dei recettori  $A_1$  come il LUF5417 che  $A_3$ , come il composto VI<sup>[102]</sup>.



**Figura 32:** Derivati a struttura tiadiazolica

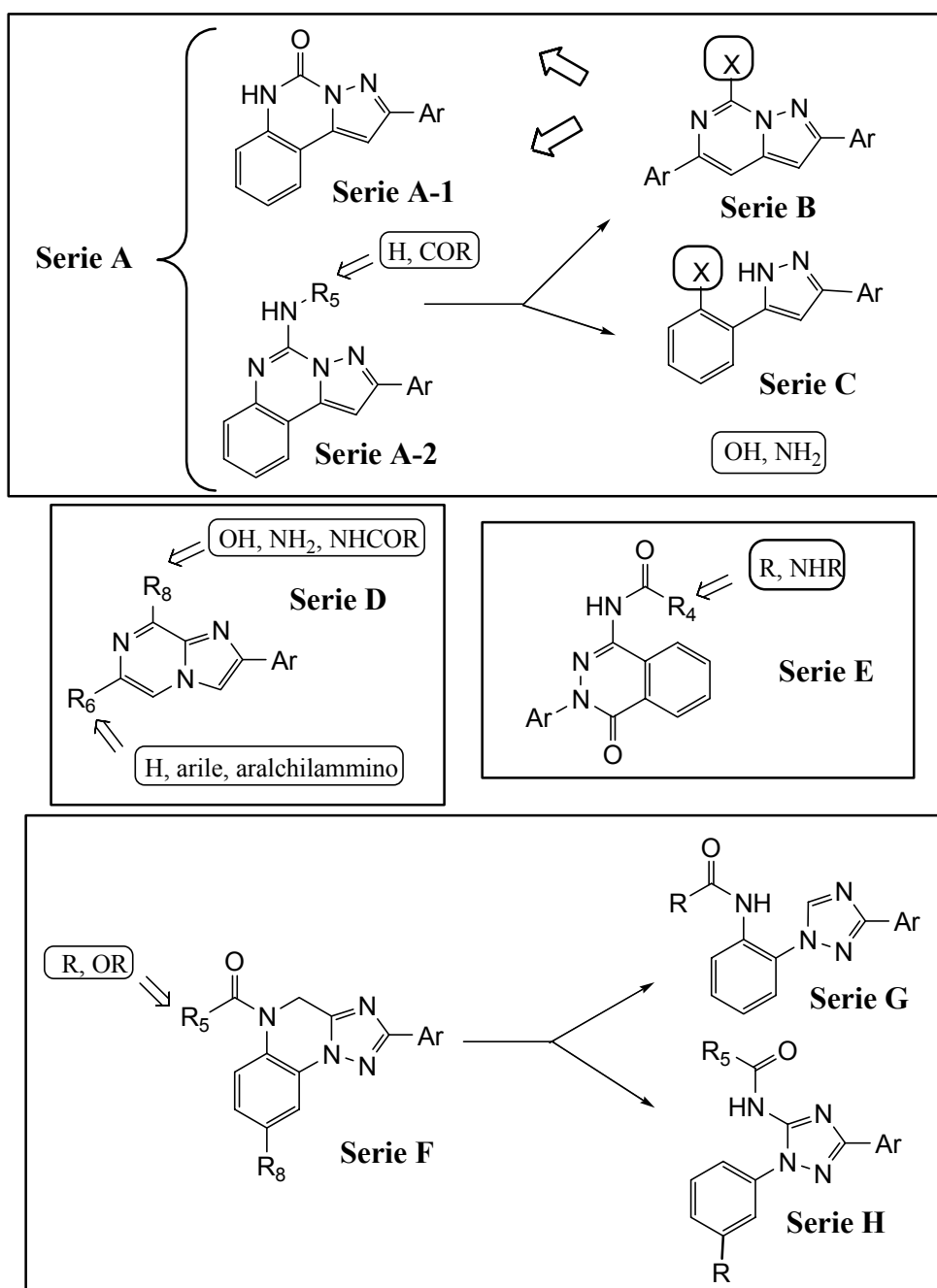
Infine, sono stati sviluppati composti a struttura 1,2,4-triazolica (VII, VIII, Fig. 33), che si sono rivelati degli antagonisti selettivi sul recettore  $hA_{2A}$ <sup>[103]</sup>.



**Figura 33**

## **2. PREMESSE E OBIETTIVI**

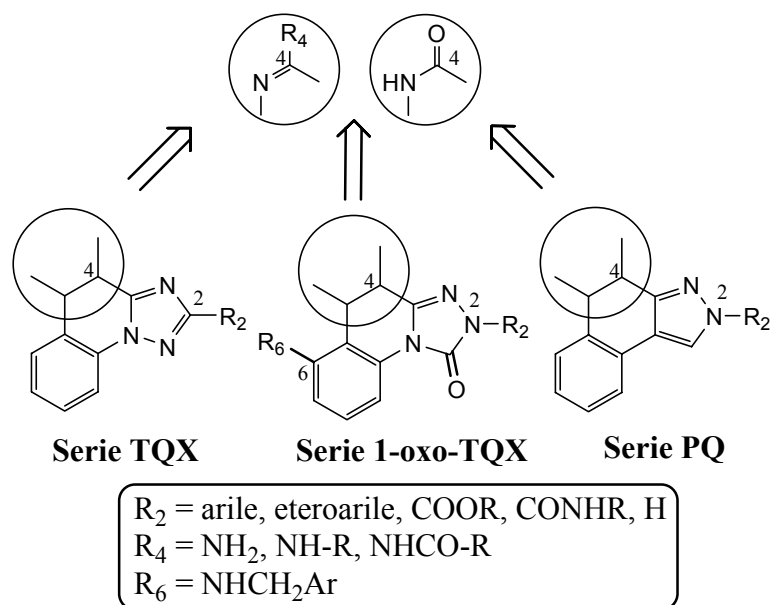
Obiettivo principale di questo progetto di ricerca è l'individuazione di nuovi scaffolds versatili per lo sviluppo di antagonisti potenti e selettivi, in particolare per i recettori  $hA_3$  ed  $hA_{2A}$  dell'adenosina. A tale scopo, sono stati progettati e sintetizzati nuovi composti riconducibili a sistemi triciclici fra loro strettamente correlati (pirazolo[1,5-c]chinazoline, **Serie A**; 1,2,4-triazolo[1,5-a]chinossaline, **Serie F**) e ad analoghi di semplificazione molecolare, a struttura biciclica (pirazolo[1,5-c]pirimidine, **Serie B**; imidazo[1,2-a]pirazine, **Serie D**; 2-aryl-1-oxo-ftalazine, **Serie E**) e monociclica (3,5-diaril-pirazoli, **Serie C**; 1,3-diaril-1,2,4-triazoli, **Serie G** e **Serie H**) (**Fig. 34**).



**Figura 34:** Nuovi scaffolds per lo sviluppo di antagonisti dei recettori dell'adenosina



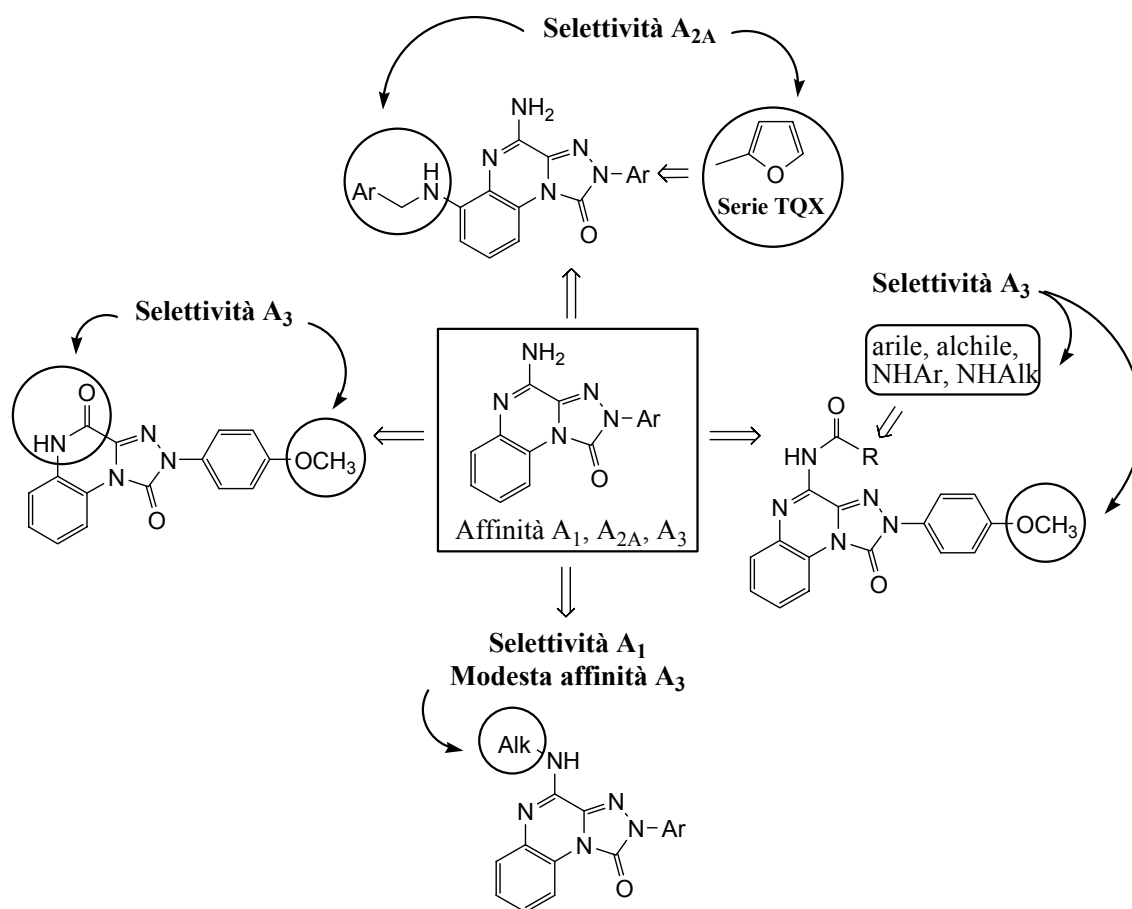
La scelta non è casuale in quanto il gruppo di ricerca presso il quale ho svolto la Tesi di Dottorato, lavora in questo campo da diversi anni. I risultati fino ad oggi ottenuti hanno permesso di chiarire le relazioni esistenti tra struttura chimica ed attività biologica, e quindi di progettare e sintetizzare nuovi derivati opportunamente modificati quali antagonisti potenti e selettivi dei recettori dell'adenosina. La maggior parte dei composti studiati fino ad oggi sono a struttura triciclica e quelli che si sono rivelati più interessanti appartengono alle classi delle 1,2,4-triazolo[1,5-a]chinossaline (**Serie TQX**)<sup>[71,93,94]</sup>, 1-oxo-1,2,4-triazolo[4-3-a]chinossaline (**Serie 1-oxo-TQX**)<sup>[85-92]</sup> e pirazolo[3,4-c]chinoline (**Serie PQ**)<sup>[96-98]</sup>, sia 4-ammino che 4-oxo-sostituite (**Fig 35**). All'interno di queste classi sono stati individuati molti nuovi composti che si sono rivelati, in funzione dei sostituenti introdotti sul sistema triciclico, antagonisti potenti e selettivi per il recettore hA<sub>3</sub>, ma anche per i sottotipi A<sub>1</sub> ed A<sub>2A</sub>. E' importante infatti ricordare che a causa delle strette analogie fra i siti di riconoscimento dei recettori A<sub>1</sub> ed A<sub>2A</sub>, difficile risulta la progettazione di composti veramente selettivi.



**Figura 35:** Leads triciclici

In ogni caso, lo studio delle relazioni struttura-attività (SAR) all'interno delle serie **TQX**, **1-oxo-TQX** e **PQ**, ma anche di serie strutturalmente analoghe, ha permesso di individuare sia i requisiti minimi per l'interazione con i tre diversi recettori A<sub>1</sub>, A<sub>2A</sub> e A<sub>3</sub>, sia le caratteristiche strutturali che indirizzano verso un particolare sottotipo. Una

schematizzazione delle SAR comuni ai derivati triciclici è riportata in **Fig. 36** prendendo come template la serie **1-oxo-TQX**, una delle più studiate.

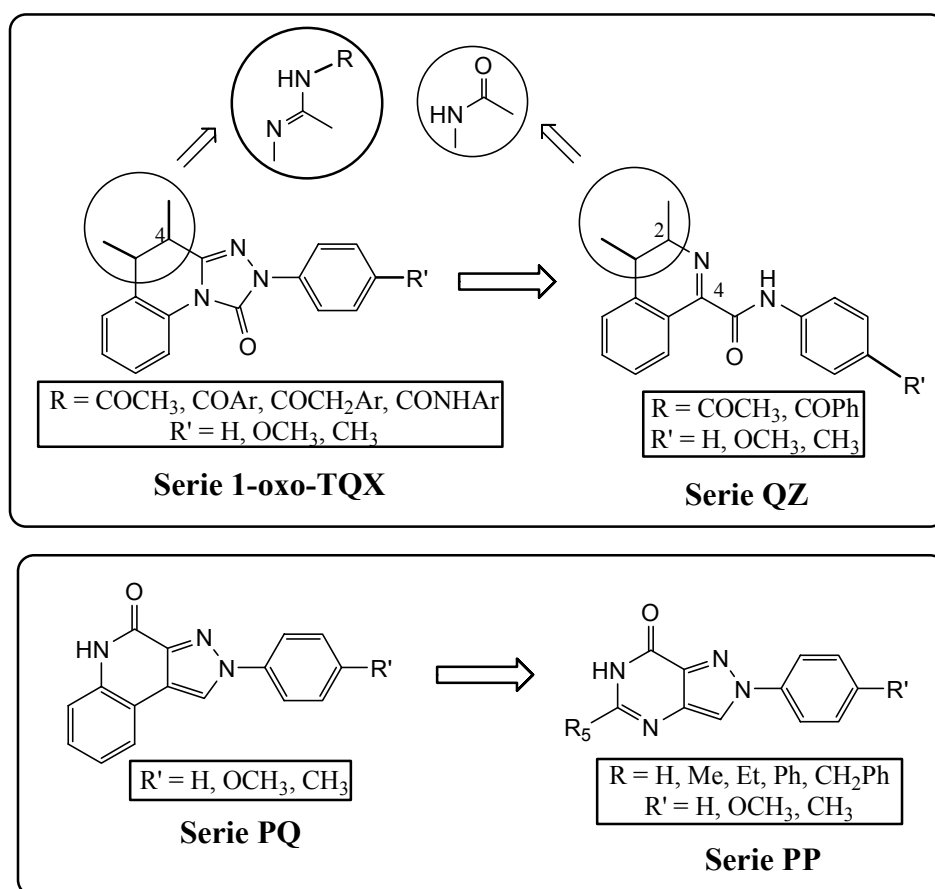


**Figura 36:** Schematizzazione delle SAR degli antagonisti triciclici

In generale, i derivati 4-ammino-2-aril-sostituiti si legano ai tre diversi sottotipi recettoriali A<sub>1</sub>, A<sub>2A</sub> ed A<sub>3</sub> con affinità paragonabile. Il gruppo 4-amminico, essenziale per il legame al recettore hA<sub>2A</sub><sup>[104]</sup>, non rappresenta invece un requisito importante per l'interazione con i recettori hA<sub>3</sub> e hA<sub>1</sub>: infatti la sua sostituzione con un gruppo 4-oxo ha fornito molti antagonisti A<sub>3</sub> potenti e selettivi<sup>[95,90,94]</sup>. Nei derivati 4-ammino-sostituiti, la selettività verso il recettore A<sub>3</sub> è influenzata fortemente dalla natura del sostituente presente sul gruppo 4-NH<sub>2</sub>. In particolare, la presenza di sostituenti acilici o carbamoilici in tale posizione determina in generale aumento di potenza e selettività verso il recettore A<sub>3</sub><sup>[91,92,95,97]</sup>. Invece, l'introduzione sull'ammino in 4 di gruppi cicloalchilici<sup>[89]</sup> conduce a composti più selettivi verso il sottotipo A<sub>1</sub>, ma in generale moderatamente affini anche per quello A<sub>3</sub>. Infine, mentre l'introduzione di piccoli

sostituenti di varia natura (Cl, CH<sub>3</sub>, NO<sub>2</sub>) sul benzene condensato dei leads triciclici produce effetti diversi sull' affinità recettoriale dipendentemente dalla serie in esame<sup>[87,90,91]</sup>, la presenza di gruppi più ingombranti, come catene arilalchilamminiche in posizione 6 della serie **1-oxo-TQX**, sposta l'attività verso il recettore A<sub>2A</sub><sup>[85,88]</sup>. Le SAR indicano inoltre che l'introduzione di piccoli gruppi (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>) sul fenile in posizione 2 migliora l'affinità A<sub>3</sub>, e fra questi il 4-OCH<sub>3</sub> è risultato il più proficuo anche per aumentare la selettività<sup>[91,94,95,97]</sup>. Invece, la presenza di un eteroarile in R<sub>2</sub> nei derivati **TQX** ed in particolare di un gruppo 2-furilico aumenta in generale l'affinità per il recettore A<sub>2A</sub><sup>[95]</sup>. Questo dato è confermato da molti dati riportati in letteratura per serie analoghe nelle quali il gruppo furilico gioca un ruolo importante anche per la selettività verso il recettore A<sub>2A</sub><sup>[95]</sup>.

Accanto ai classici ligandi triciclici dei recettori dell'adenosina, il gruppo presso cui ho svolto la Tesi di Dottorato, ha sviluppato anche alcuni derivati eterociclici a struttura biciclica dotati di elevata affinità per i recettore hA<sub>3</sub> (**Fig. 37**)<sup>[105]</sup>.



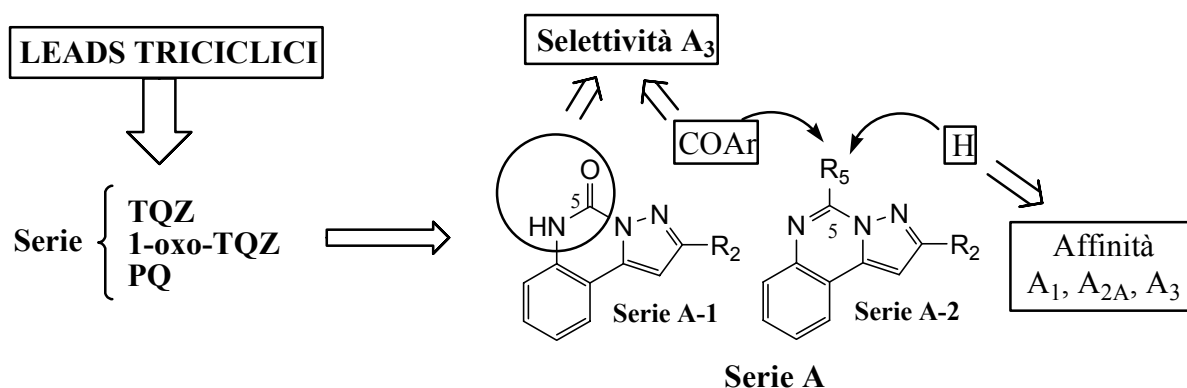
**Figura 37:** Derivati biciclici quali antagonisti A<sub>3</sub> selettivi

In particolare, i derivati 4-carbossamido-chinazolinici (**QZ**)<sup>[105]</sup> riportati in **Figura 37** sono stati disegnati attraverso una semplificazione strutturale delle 2-aril-1,2,4-triazolo[4,3-a]chinossaline (**Serie 1-oxo-TQX**) attraverso l'apertura formale dell'anello 1,2,4-triazolico. Invece, i composti a struttura 7-oxo-pirazolo[4,3-d] pirimidinica (**PP**)<sup>[4]</sup> (**Fig. 37**) possono essere considerati i de-benzo-derivati delle 4-oxo-pirazolo[3,4-c]chinoline (**PQ**)<sup>[96-98]</sup>.

Come osservato per i leads triciclici, nei derivati **QZ** la sostituzione del gruppo 2-amminico con una funzione 2-oxo è vantaggiosa per l'ancoraggio al recettore hA<sub>3</sub>. Allo stesso modo, l'affinità per questo recettore aumenta quando il gruppo 2-NH<sub>2</sub> viene sostituito con un sostituito acilico, oppure quando il gruppo 4-carbossamidico reca un fenile 4-metossi-sostituito. Anche i derivati della **serie PP** mostrano alta affinità e selettività per il sottotipo A<sub>3</sub> e la loro potenza è strettamente influenzata dalla presenza di un gruppo 4-metossilico sul fenile in 2. In posizione 5 non sono tollerati gruppi ingombranti: infatti R<sub>5</sub>, deve essere un atomo di H oppure un piccolo alchile.

I risultati ottenuti hanno permesso di dimostrare che la semplificazione molecolare, in alcuni casi, può portare non solo al mantenimento, ma anche al miglioramento dell'attività biologica rispetto alle molecole di riferimento. Inoltre, questa strategia può permettere di progettare nuovi farmaci con l'obiettivo di migliorarne le proprietà chimico-fisiche, aumentarne la biodisponibilità per garantirne l'uso in vivo e, non meno importante, semplificarne la via sintetica. Infatti, il vero successo dell'applicazione di questa metodica non è stato tanto quello di aver mantenuto inalterata o aumentato l'affinità per il recettore hA<sub>3</sub> dei derivati **QZ** e **PP**, quanto quella di aver ottenuto un forte aumento della solubilità degli stessi, rispetto a quella dei rispettivi leads triciclici, nei comuni solventi organici<sup>[4,105]</sup>.

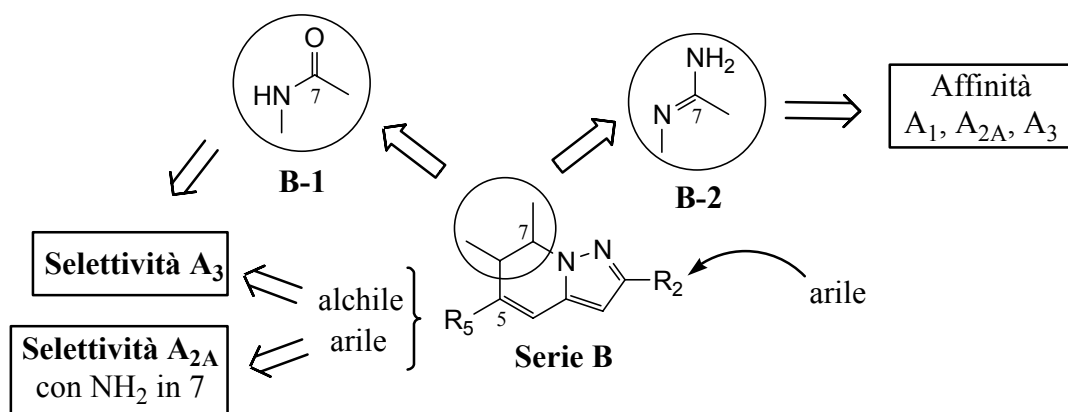
**Progettazione dei derivati a struttura pirazolo[1,5-c]chinazolinica (Serie A) e dei loro analoghi di semplificazione molecolare (Serie B e C).** Sulla base delle conoscenze acquisite sugli antagonisti triciclici studiati fino ad oggi, sono stati progettati nuovi composti a struttura pirazolo[1,5-c]chinazolinica (**Serie A, Fig. 38**), recanti in posizione 5 (corrispondente alla 4 nei leads triciclici) le funzioni oxo (**Serie A-1**) ed ammino (**Serie A-2**), con l'intento di valutarne l'affinità per i sottotipi recettoriali A<sub>1</sub>, A<sub>2A</sub>, A<sub>2B</sub> ed A<sub>3</sub>. L'obiettivo principale è quello di stabilire se il sistema triciclico pirazolo-chinazolinico può rappresentare uno scaffold versatile per lo sviluppo di nuovi composti che possano interagire con tali recettori.



**Figura 38:** Derivati a struttura pirazolo[1,5-c]chinazolinica

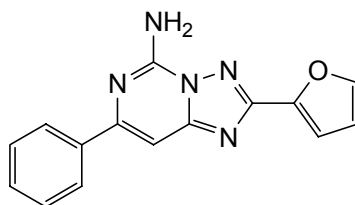
Si è quindi pensato di valutare se le SAR ricavate dagli studi sui leads triciclici potessero essere estese anche ai derivati pirazolo[1,5-c]chinazolinici (**Serie A-1 e A-2**) strutturalmente analoghi. In particolare sono stati effettuati studi preliminari variando il sostituente in posizione 2. Infatti, oltre ai sostituenti p-metossi-fenilico (inserito per aumentare affinità e selettività A<sub>3</sub>)<sup>[91,94,95,97]</sup> e 2-furilico (per aumentare l'affinità A<sub>2A</sub>)<sup>[21,99,104]</sup>, è stato preso in considerazione anche il meno classico gruppo carbossietilico, che nella serie **TQX** aveva condotto a composti attivi e selettivi per il recettore hA<sub>3</sub><sup>[93,95]</sup>. Infine sempre con l'intento di aumentare potenza e selettività verso questo sottotipo recettoriale, si è pensato di introdurre un gruppo acilico sull'ammino in posizione 5 per analogia con i leads triciclici.

Sulla base degli interessanti risultati ottenuti con i derivati di semplificazione molecolare **QZ** e **PP** (**Figura 37**), e considerati i frequenti problemi di solubilità riscontrati nei derivati a struttura triciclica, si è pensato di prospettare la sintesi anche di composti strutturalmente più semplici rispetto ai leads, ma che conservassero tutti i requisiti considerati utili per una interazione efficace con i recettori dell'adenosina. Sono stati quindi progettati i derivati a struttura pirazolo[1,5-c]pirimidinica, variamente sostituiti nelle posizioni 2 e 7 (**Serie B, Fig. 39**) che possono essere considerati i de-benzo-analoghi dei composti pirazolo-chinazolinici (**Serie A**). E' importante ricordare che alcuni derivati biciclici 6:5, appartenenti a classi chimiche diverse, sono descritti in letteratura, oltre che come antagonisti A<sub>3</sub> (derivati **QZ**<sup>[105]</sup> e **PP**<sup>[4]</sup>), anche come potenti antagonisti dei recettori A<sub>2A</sub><sup>[21,99,104]</sup>.



**Figura 39:** Derivati a struttura pirazolo[1,5-c]pirimidinica

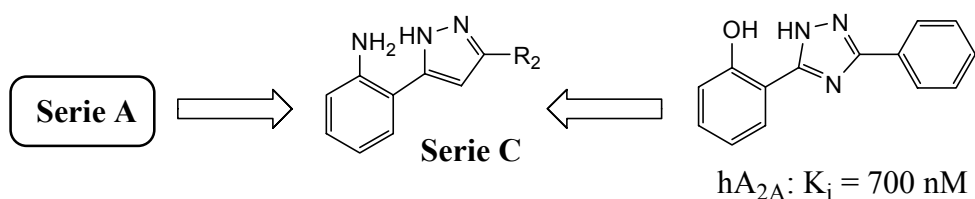
Quindi, con l'intento di indirizzare l'affinità verso il recettore  $hA_3$  sono stati progettati i derivati 7-oxo-pirazolopirimidinici; invece, per spostarsi sul recettore  $hA_{2A}$ , si è pensato di mantenere il gruppo 7-amminico, essenziale per l'affinità, e di introdurre un gruppo arilico in posizione 5, che dovrebbe indirizzare la selettività verso questo sottotipo recettoriale. Tale modifica è suggerita dai dati di binding di analoghi biciclici come quello a struttura triazolo[1,5-a]pirazinica<sup>[106]</sup>, riportato in **Figura 40**.



$hA_{2A}$ :  $K_i = 7.0 \text{ nM}$

**Fig. 40:** Antagonista del recettore  $hA_{2A}$

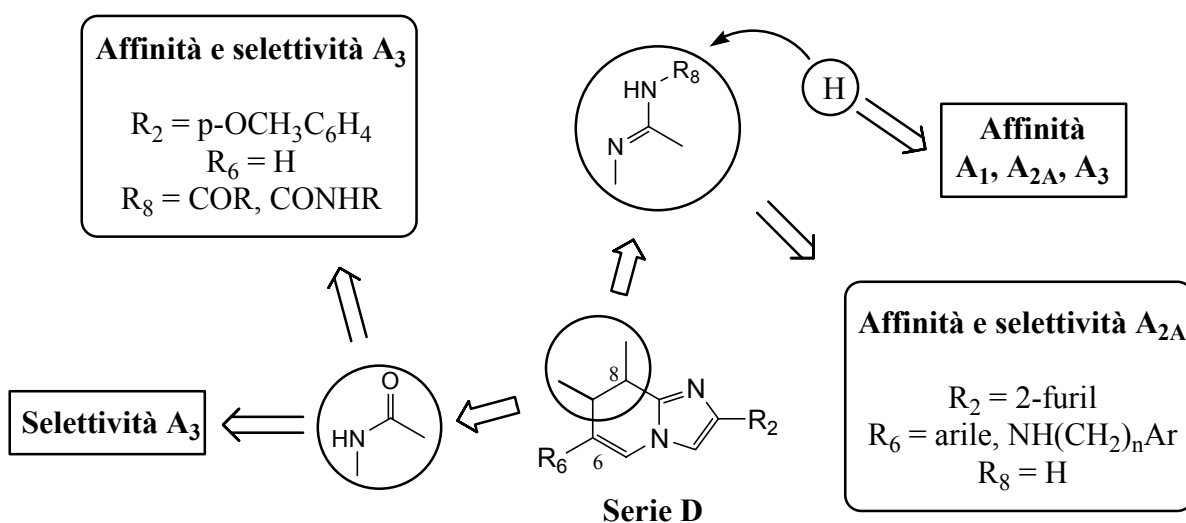
Contemporaneamente, si è pensato di testare biologicamente anche i corrispondenti derivati pirazolici (**Serie C**, **Fig. 41**) senza velleità di successo sulla selettività, ma per verificare se composti strutturalmente più semplici, contenenti i requisiti minimi, fossero in grado di mantenere l'affinità per i diversi sottotipi recettoriali. Tali composti presentano comunque strette analogie con altri derivati monociclici a struttura triazolica, riportati in letteratura quali antagonisti del recettore  $A_{2A}$ <sup>[103]</sup>.



**Figura 41**

Sulla **Serie A** e sui prodotti di semplificazione molecolare (**Serie B e C**), sono stati previsti studi di molecular modeling al fine di giustificare la SAR e quindi le modalità di interazione con il sito di binding.

**Progettazione dei derivati a struttura imidazo[1,2-a]pirazinica (Serie D).** Accanto ai derivati a struttura pirazolo[1,5-c]pirimidinica (**Serie B**) (**Fig. 39**) sono stati progettati nuovi derivati biciclici a struttura imidazo[1,2-a]pirazinica (**Serie D**, **Fig. 42**), variamente sostituiti nelle posizioni 6 e/o 8, nell'intento di ottenere composti selettivi per i recettori  $hA_3$  e  $hA_{2A}$ , rispettivamente.

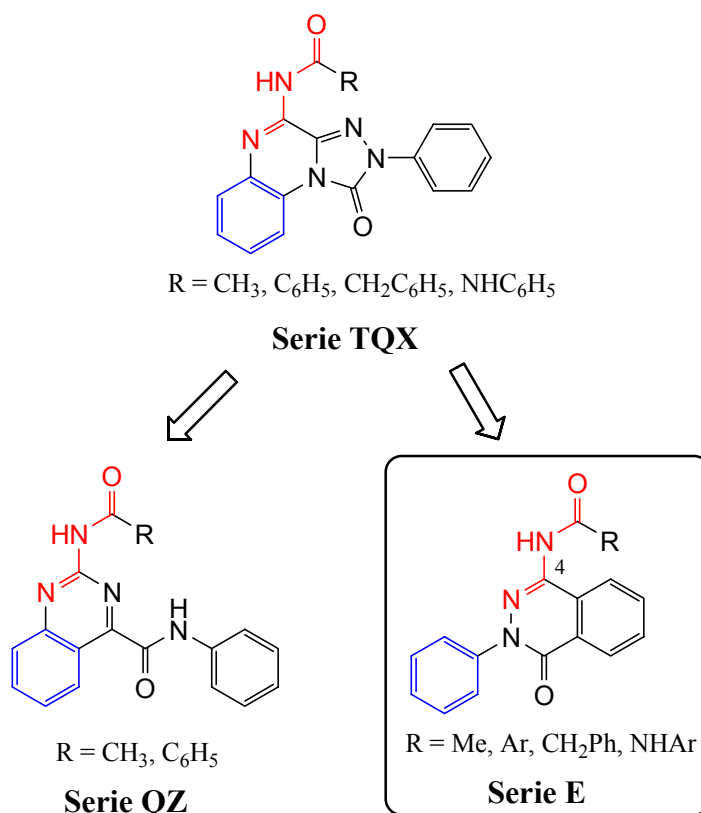


**Figura 42:** Derivati a struttura imidazo[1,2-a]pirazinica

In particolare, gli 8-oxo-derivati presentano strette analogie con i composti della **Serie PP<sup>[4]</sup>** (**Fig. 37**) e sono stati quindi progettati come  $A_3$  antagonisti. Anche l'introduzione in posizione 8 di gruppi ammidici o ureidici, sulla base delle SAR degli analoghi triciclici, dovrebbe incrementare affinità e selettività  $A_3$ . Per lo stesso motivo, in alcuni composti si è pensato di inserire un gruppo 4- $\text{OCH}_3$  sul fenile in posizione 2.

Nell'intento di ottenere antagonisti  $A_{2A}$ , le modificazioni principali riguardano la posizione 6, e consistono nell'introdurre gruppi arilici e arilalchilamminici. Tali sostituenti sono stati scelti sulla base delle SAR di analoghi derivati biciclici riportati in letteratura quali antagonisti del recettore  $A_{2A}$ <sup>[21,99]</sup>: la presenza di gruppi lipofili variamente distanziati dal nucleo biciclico è importante per aumentare affinità e selettività verso il recettore  $A_{2A}$ . Anche l'introduzione del gruppo 2-furilico non è casuale, ma, basandosi sui dati di letteratura, tesa ad incrementare la selettività verso il recettore  $A_{2A}$ <sup>[104]</sup>.

**Progettazione dei derivati a struttura 2-aril-1-oxo-ftalazinica quali antagonisti del recettore  $hA_3$  (Serie E).** Accanto al nucleo chinazolinico (derivati QZ), molti altri sistemi biciclici eteroaromatici, contenenti i requisiti minimi essenziali a garantire un'efficace interazione con il recettore in esame, sono stati presi in considerazione come possibili scaffold per lo sviluppo di nuovi antagonisti  $hA_3$ .



**Figura 43:** Semplificazione molecolare della serie 1-oxo-TQX

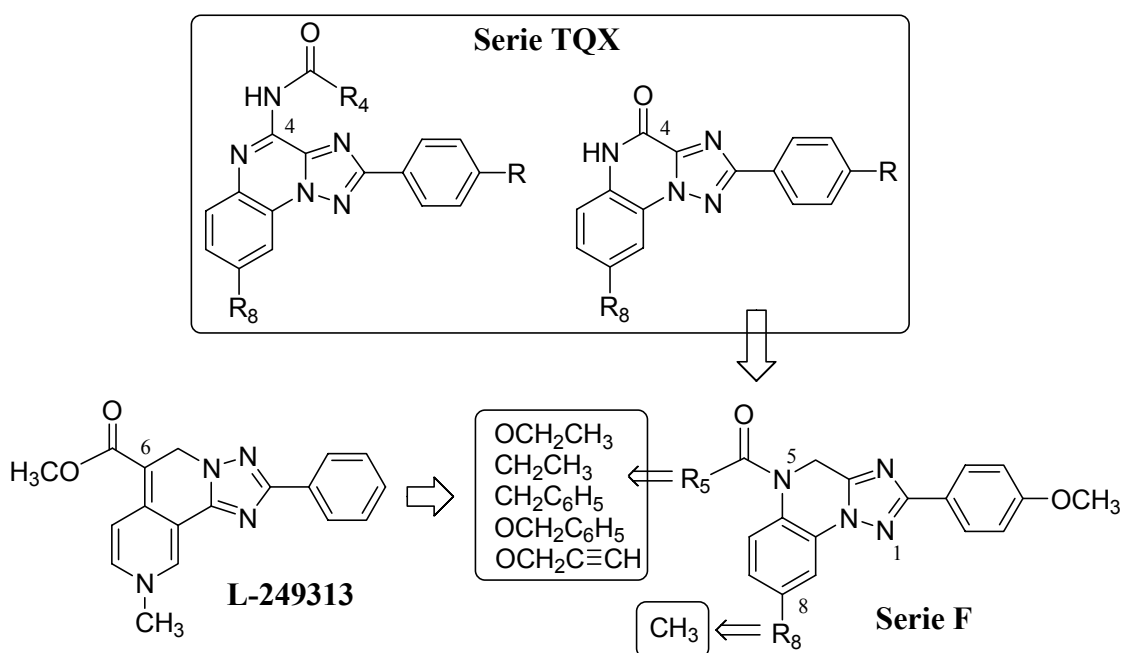


Fra questi, l'attenzione è stata rivolta verso il nucleo 1-oxo-ftalazinico (**Serie E**, **Fig. 43**) che presenta strette analogie strutturali con i derivati triciclici **1-oxo-TQX** e con i prodotti di semplificazione molecolare **QZ**. In particolare, si è pensato di introdurre differenti gruppi ammidici ed ureidici in posizione 4, sul sistema 2-fenil-1-oxo-ftalazinico, in analogia ai composti lead. I sostituenti inseriti sul fenile nella catena laterale in 4, presentano caratteristiche elettroniche diverse, differente lipofilia ed ingombro sterico. In **Figura 43**, i differenti colori identificano le porzioni di molecola comuni alle tre diverse serie, e sovrapponibili.

Sulla **Serie E** sono stati previsti studi di molecular modeling al fine di chiarire le modalità di interazione al sito di binding.

**Progettazione dei derivati a struttura 1,2,4-triazolo[1,5-a]chinossalinica (Serie F) e dei loro analoghi di semplificazione (Serie G e H), quali hA<sub>3</sub> antagonisti.**

I composti triciclici appartenenti alla **Serie F** derivano da modificazioni strutturali poco profonde dei composti della **Serie TQX** (**Fig. 35**) precedentemente studiata, nella quale sono stati individuati numerosi A<sub>3</sub> antagonisti dotati di elevata affinità e selettività. Le SAR, analoghe a quelle di altre serie a struttura triciclica, indicano che in posizione 4 sembra essere essenziale la presenza di un gruppo carbonilico, sia esso eso- (derivati 4-acilamminici) che endo-nucleare (derivati 4-oxo).

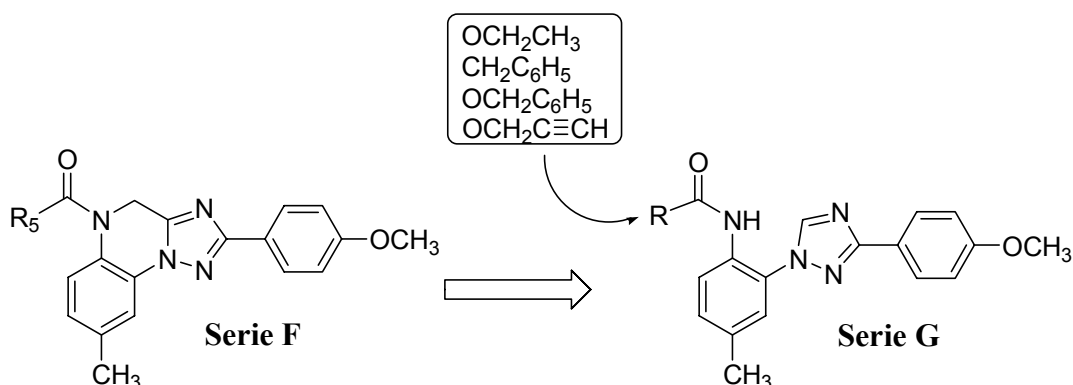


**Figura 44**

Su questa base, sono stati progettati nuovi composti a struttura 4,5-diidro-1,2,4-triazolo[1,5-a]chinossalinica (**Serie F**) nei quali la funzione 4-oxo è stata spostata in posizione esonucleare, tramite introduzione in posizione 5 di gruppi carbonilici o carbossilici. Tali gruppi, caratterizzati da diverso ingombro sterico, sono stati introdotti con l'intento di valutare se questa è una posizione critica per l'affinità e la selettività verso il recettore hA<sub>3</sub>.

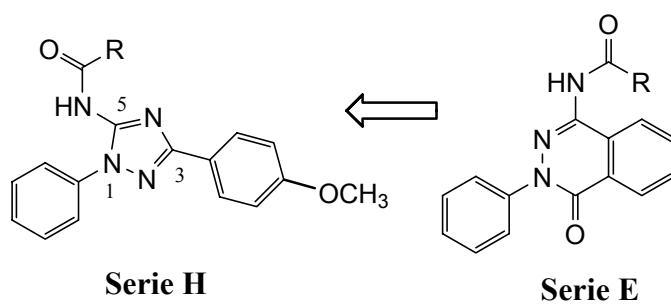
Al contrario, sullo scaffold triciclico sono stati inseriti, come termine fisso, un gruppo metilico in posizione 8, per analogia con il derivato **L-249313**<sup>[107]</sup> (Fig. 44), ed un gruppo metossilico in para sul fenile in 2, come indicato dalle SAR di antagonisti triciclici potenti e selettivi sul recettore hA<sub>3</sub>.

Sono stati anche progettati i composti monociclici a struttura 1,2,4-triazolica (**serie G**, Fig. 45) che rappresentano i derivati di semplificazione molecolare dei composti della **Serie F** (Fig. 44). Tali nuovi derivati sono stati formalmente ottenuti aprendo il nucleo triazolo-chinossalinico a livello della posizione 4 e quindi eliminando il ponte etilenico in tale posizione.



**Figura 45**

Per analogia con i composti della **Serie G**, sono stati progettati i derivati 1,2,4-triazolici della **Serie H** (Fig. 46) nei quali il gruppo amminico sul fenile in 1, è stato spostato sul nucleo triazolico in posizione 5. Seppure con molta approssimazione, tali nuovi composti potrebbero essere considerati come derivanti da una semplificazione molecolare dei composti 1-oxo-ftalazin-4-amminici della **Serie E**.

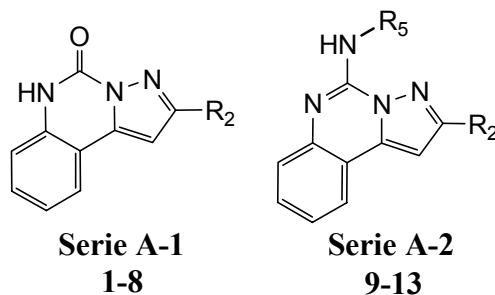


**Figura 46**

### **3. PARTE CHIMICA**

**Sintesi dei composti a struttura pirazolo[1,5-c]chinazolinica 1-13 (Serie A) e di semplificazione molecolare 14-16 (Serie B) e 17-22 (Serie C)**

Uno degli obiettivi di questo lavoro di tesi è stata la sintesi di composti a struttura pirazolo[1,5-c]chinazolinica 5-oxo- (**Serie A-1**) e 5-ammino-sostituiti (**Serie A-2**), recanti in posizione 2 un gruppo (etero)arilico o un gruppo carbossilico (**Tabella 4**).

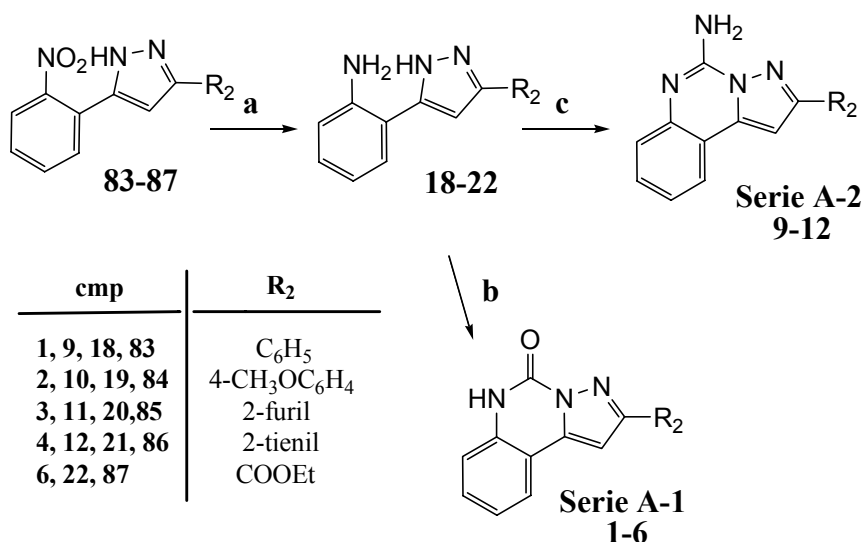


**Tabella 4**

	N	R <sub>2</sub>	R <sub>5</sub>
<b>A-1</b>	<b>1</b>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	-
	<b>2</b>	4-OCH <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	-
	<b>3</b>	2-furil	-
	<b>4</b>	2-tienil	-
	<b>5</b>	2-piridil	-
	<b>6</b>	COOEt	-
	<b>7</b>	COOCH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	-
	<b>8</b>	COONHCH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	-
<b>A-2</b>	<b>9</b>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H
	<b>10</b>	4-OCH <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	H
	<b>11</b>	2-furil	H
	<b>12</b>	2-tienil	H
	<b>13</b>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	COC <sub>6</sub> H <sub>5</sub>

Gli intermedi chiave per la sintesi di questi composti sono rappresentati dai 2-nitrofenilpirazoli (**83-87**) opportunamente sostituiti, che sono poi ridotti ad ammino derivati (**18-22**) e quindi ciclizzati ai triclici con trifosgene (**1-6**) o con cianammide (**9-12**) (**Schema 1**).

**Schema 1**

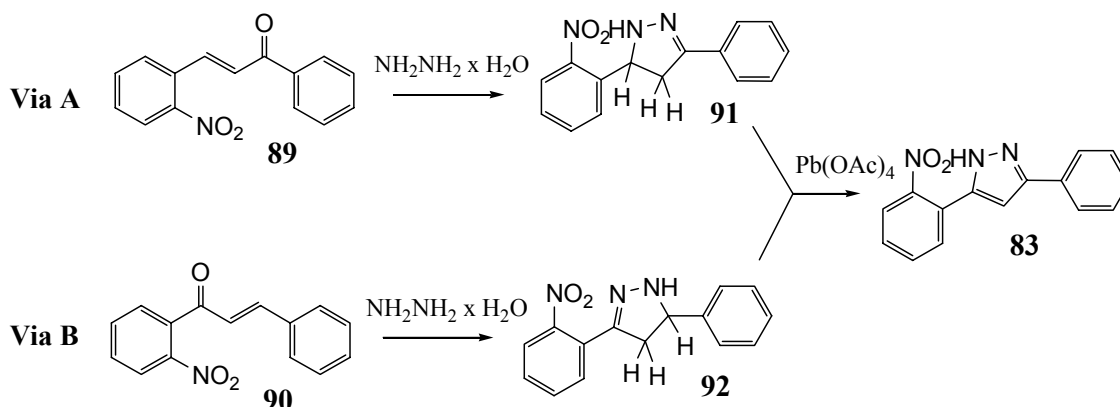


**a)** H<sub>2</sub>, Pd/C, AcOEt; **b)** (CCl<sub>3</sub>O)<sub>2</sub>CO, Et<sub>3</sub>N, THF; **c)** NH<sub>2</sub>CN, N-metilpirrolidone, acido p-toluensolfonico.

Per la preparazione dei derivati **1**, **5** e **6**, sono state seguite le procedure riportate in letteratura<sup>[115,116]</sup>, mentre i composti **2-4**, sebbene già sintetizzati in passato dal gruppo presso cui ho svolto la tesi di dottorato<sup>[115]</sup>, sono stati sintetizzati utilizzando strategie e metodiche diverse, così come riportato nella parte sperimentale.

Il composto **83** è stato preparato in passato seguendo due vie diverse (**Schema 2**): utilizzando l'1-fenil-3-(2-nitrofenil)-2-propen-1-one **89** o l'1-(2-nitrofenil)-3-fenil-2-propen-1-one **90**.

## Schema 2

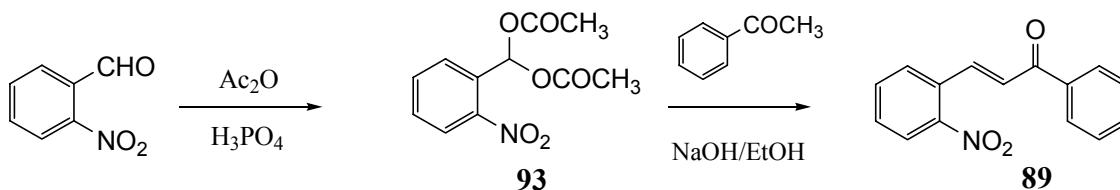


Entrambi i due 2-nitrofenil-calconi **89** e **90** per reazione con idrazina anidra al 65% (**Via A** e **Via B**) conducono a due diverse pirazoline isomere **91** e **92**, che per ossidazione con piombo tetracetato forniscono il 2-nitrofenil-pirazolo desiderato **83** con rese paragonabili. La scelta del metodo da seguire per l'ottenimento del 3,5-diarilpirazolo opportunamente sostituito, è stata effettuata sulla base della disponibilità commerciale e del costo dei prodotti di partenza.

Infatti, anche se il 2-nitrofenil-calcone **90** si prepara più facilmente e con rese maggiori rispetto a **89**, la scelta è ricaduta su quest'ultimo in quanto la pirazolina **91** che ne deriva (**Via A**), è un solido, chimicamente stabile e ottenibile con un elevato grado di purezza; al contrario, la pirazolina **92** (**Via B**) è un olio che si degrada velocemente e si ottiene con rese basse.

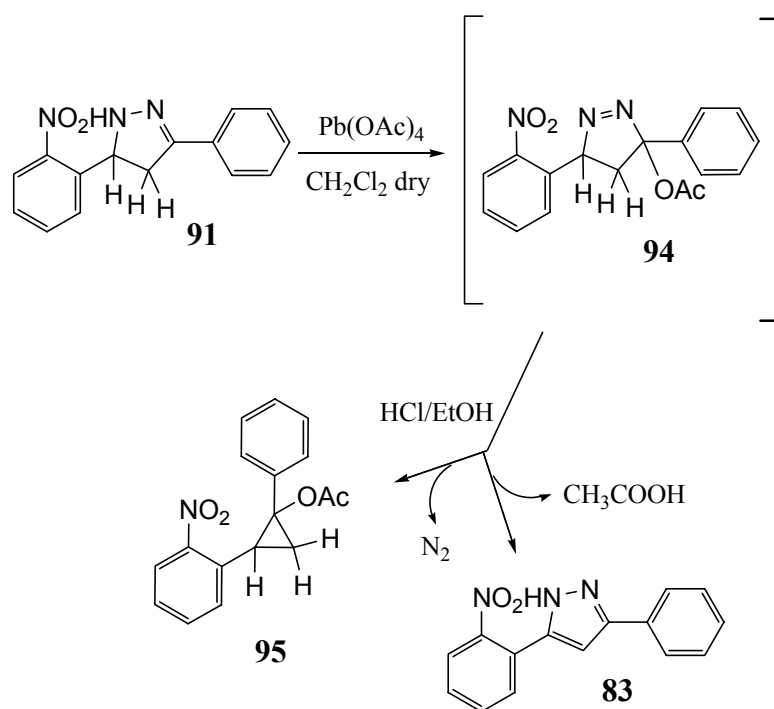
La sintesi del 2-nitrofenil-calcone **89** è effettuata per condensazione dell'acetofenone commerciale con il diacetato della 2-nitrobenzaldeide **93** in presenza di NaOH al 20%, come riportato in letteratura<sup>[113]</sup> (**Schema 3**).

## Schema 3



L'ossidazione della pirazolina **91** (ottenuta come riportato nello **Schema 2**) con piombo tetracetato in cloruro di metilene porta all'ottenimento di un intermedio non isolato, la 3-acetossi-pirazolina **94**. Da questa, per eliminazione di acido acetico in ambiente cloridrico si ottiene il pirazolo **83** spesso accompagnato dal derivato ciclopropanico **95**, isolato e caratterizzato (**Schema 4**).

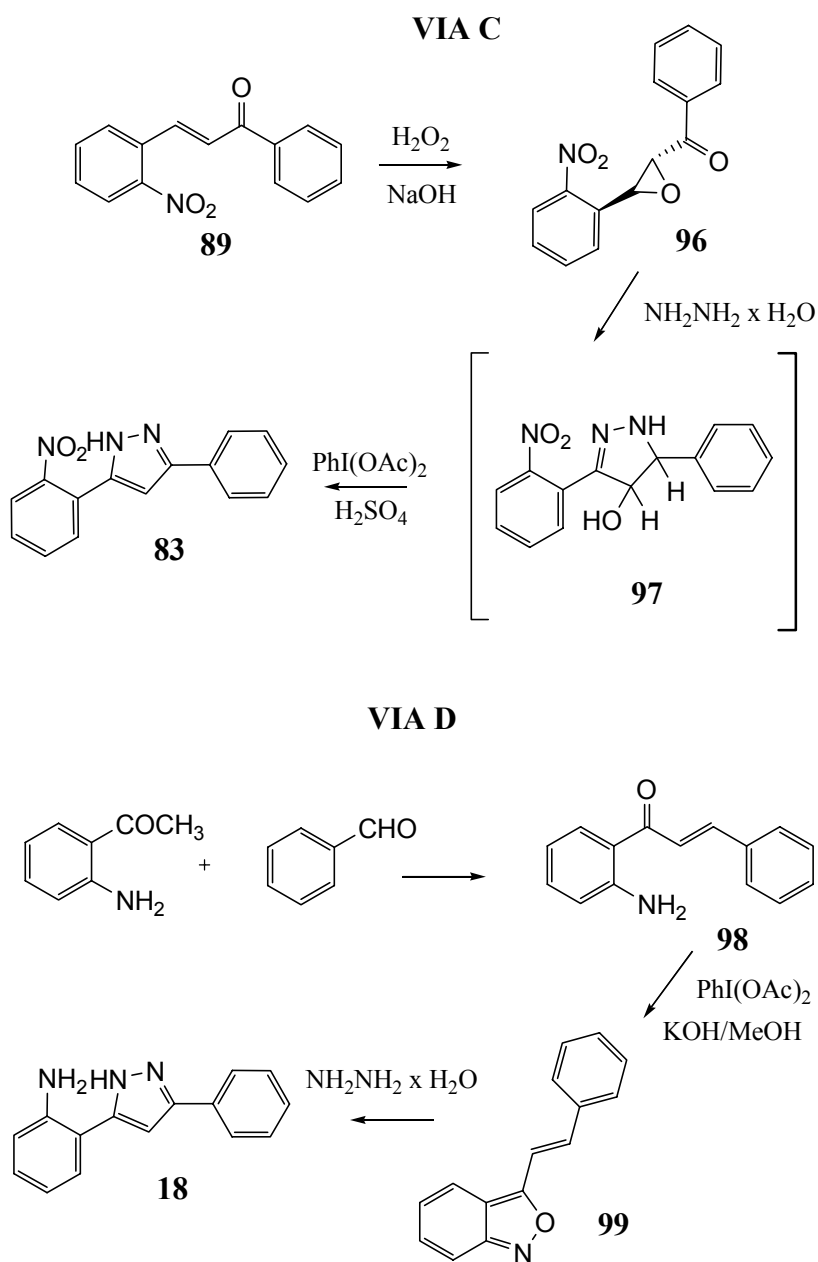
**Schema 4**



Appare evidente che il passaggio riguardante l'ossidazione delle pirazoline **91** e **92** a pirazolo **83** è denso di difficoltà, per cui si è pensato di aggirare l'ostacolo cercando strategie. Le vie alternative utilizzate (**VIA C** e **VIA D**) (**Schema 5**) hanno consentito l'isolamento dei composti **18** e **83**, ma con rese talmente basse da scoraggiarne l'uso. I tentativi sono stati effettuati per ottenere il derivato più semplice della serie, e cioè il 3(5)-fenil-5(3)-(2-nitrofenil)-pirazolo.



## Schema 5



La strategia riportata nella **VIA C** prevede come intermedi chiave l'epossicalcone **96**<sup>[125]</sup> che, trattato con idrazina idrata fornisce l'idrossipirazolina **97** non isolata, che viene poi disidratata a 2-nitro-fenil-pirazolo **83** per trattamento con  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrato. La resa di **83** è inferiore al 10%.

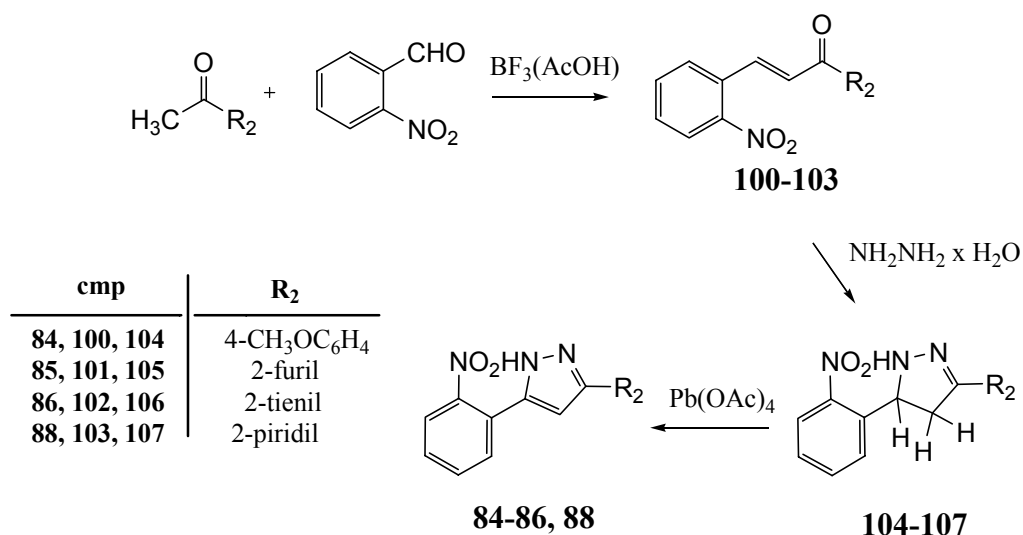
La **VIA D** riguarda invece la sintesi del 2-ammino-fenil-pirazolo **18** a partire dall'ammino-calcone **98** sintetizzato da 2-amminoacetofenone e benzaldeide, commerciali. La strategia prevede di passare attraverso un 3-( $\beta$ -stiril)-2,1-benzisossazolo **99** ottenuto dal 2-ammino-calcone **98** per trattamento con

iodobenzenediacetato<sup>[126]</sup>. La reazione di **99** con idrazina anidra ha permesso di ottenere **18** con una resa del 5%.

Le due nuove strategie sintetiche non hanno quindi consentito la messa a punto di una nuova metodica per garantire la sintesi di nuovi 3,5-diaril-pirazoli con rese più elevate rispetto alle metodiche classiche<sup>[115,116]</sup>.

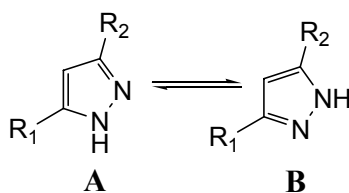
Nonostante le difficoltà incontrate per la sintesi di **83**, gli altri 3,5-diaril-pirazoli **84-86**, **88** (Schema 6) sono stati sintetizzati seguendo la VIA A (Schema 2), ma utilizzando prodotti di partenza diversi e diverse condizioni di reazione rispetto a quelle viste per il composto **90**.

Schema 6



L'isolamento e la caratterizzazione dei pirazoli **84-86**, **88**, sono state rese difficili dal fatto che i 3,5-diaril-1H-pirazoli possono esistere in 2 forme tautomeriche A e B, come mostrato in **Figura 47**.

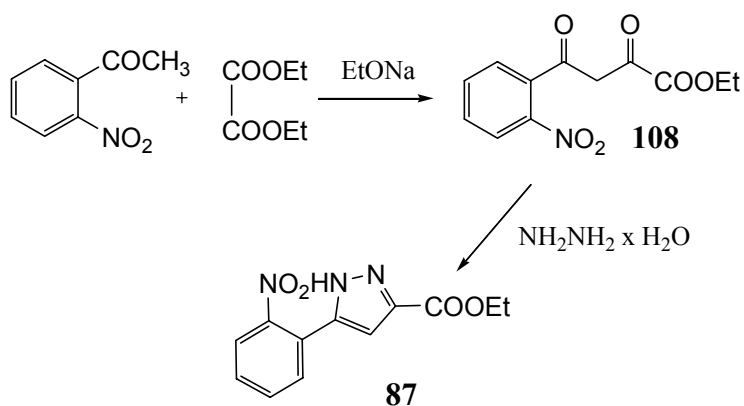
Quando i sostituenti R<sub>1</sub> e R<sub>2</sub> sono diversi, i due tautomeri non sono equivalenti. Questo comportamento è stato evidenziato negli spettri <sup>1</sup>H-NMR, specialmente quando registrati in CDCl<sub>3</sub>.



**Figura 47**

Il derivato 2-carbossietil-sostituito **6**<sup>[116]</sup> è sintetizzato a partire dal 2-nitro-fenil-pirazolo-3-carbossilato di etile **87**, preparato facendo reagire il  $\beta$ -dicheto-estere **108** e idrazina idrata. L'intermedio **108** viene ottenuto per reazione fra il 2-nitroacetofenone commerciale e il dietilossalato in ambiente di etossido di sodio<sup>[127]</sup> (**Schema 7**).

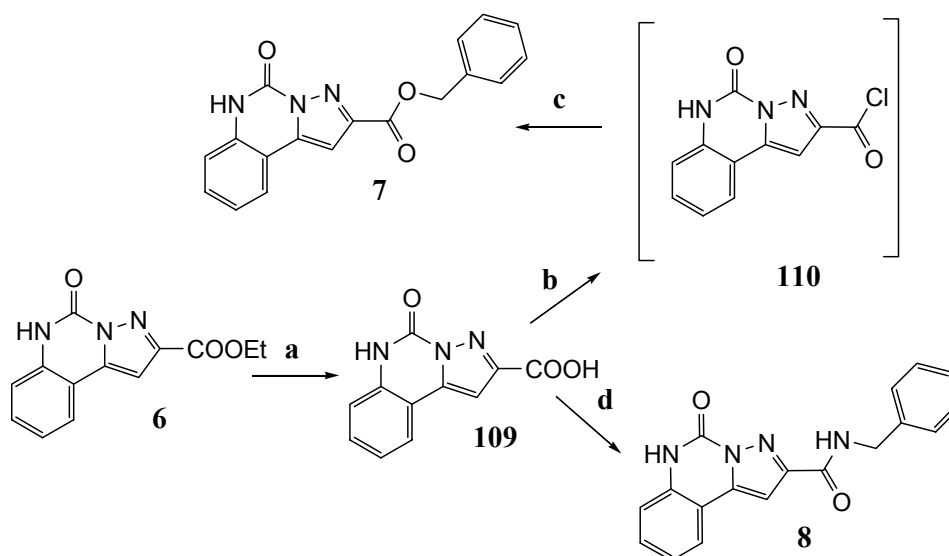
**Schema 7**



La riduzione dei diarilpirazoli **83-88** e la successiva ciclizzazione a derivati triciclici 5-oxo (**Serie A-1, 1-6**), 5-ammino (**Serie A-2, 9-12**), è riportata nello **Schema 1**.

I composti **7** e **8**, recanti rispettivamente in posizione 2 un gruppo benzilcarbossilico e benzilcarbossiammidico, sono stati ottenuti facendo reagire l'acido carbossilico corrispondente **109**, ottenuto per idrolisi dell'estere **6**, rispettivamente con benzilalcol e benzilammina (**Schema 8**).

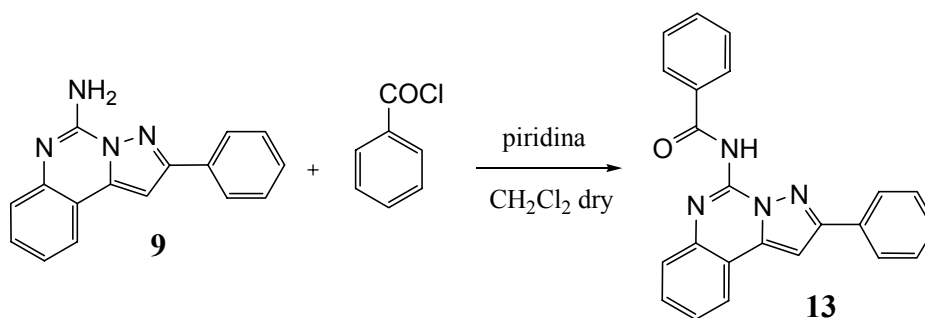
**Schema 8**



**a)** HCl 6N, AcOH, reflux; **b)** SOCl<sub>2</sub> reflux; **c)** benzilalcol, THF dry; **d)** benzilammina, N-(3-dimetilammino)-propil-N'-etilcarbodiimmide Cl, 1-idrossibenzotriazolo H<sub>2</sub>O, DMF dry

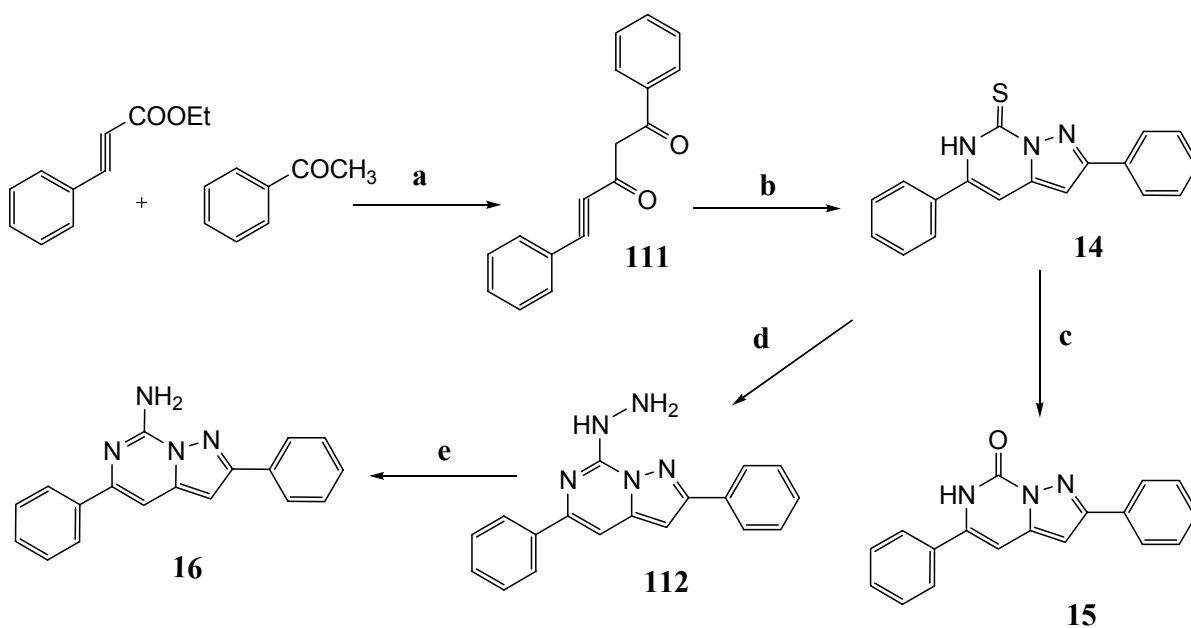
La benzoilazione del derivato triciclico 2-fenil-5-ammino-sostituito **9** è stata effettuata con cloruro di benzoile in presenza di piridina a dare il derivato **13** con buone rese (**Schema 9**).

**Schema 9**



**Sintesi dei derivati a struttura pirazolo[1,5-c]pirimidinica 14-16 (Serie B).** Le pirazolo[1,5-c]pirimidine sono state sintetizzate a partire dal  $\beta$ -dichetone acetilenico **111** e tiosemicarbazide a dare il 5-tiooxo-derivato **112** (Schema 10), secondo una procedura riportata in letteratura<sup>[117-119]</sup>

**Schema 10**



**a)** 1) EtONa, BF<sub>3</sub>(CH<sub>3</sub>COOH)<sub>2</sub>, Et<sub>2</sub>O dry, rt; 2) (CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>Cu; **b)** tiosemicarbazide, EtOH, reflux; **c)** H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30%, NaOH 10%; **d)** NH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> H<sub>2</sub>O 65%, EtOH; **e)** H<sub>2</sub>, Ni-Raney, EtOH

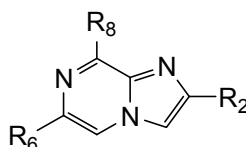
Il composto **14** rappresenta l'intermedio chiave per la sintesi sia del 5-oxo- **15** che del 5-ammino derivato **16**.

Per l'ottenimento del composto **15** si fa reagire l'intermedio **14** con perossido di ossigeno al 30% in NaOH, mentre per sintetizzare il 5-ammino-derivato **16** occorre passare attraverso la corrispondente idrazina **112** per poi effettuare una riduzione utilizzando H<sub>2</sub> e catalizzatore Nickel-Raney.

## Sintesi dei composti a struttura imidazo[1,2-a]pirazinica 23-46 (Serie D)

Altro obiettivo di questo lavoro di tesi è stata la sintesi di nuovi composti a struttura imidazo[1,2-a]pirazinica **23-47** (**Tabella 5**), variamente sostituiti nelle posizioni 2, 6 e 8, quali antagonisti dei recettori hA<sub>3</sub> ed hA<sub>2A</sub> dell'adenosina.

Mantenendo fisso il gruppo amminico primario in R<sub>8</sub>, in posizione 2 sono stati introdotti sostituenti arilici diversi (fenile, p-metossifenile e furile) ottenendo così i composti **23-27**, che rappresentano gli scaffold di partenza per la sintesi dei composti progettati. Al fine di ottenere antagonisti A<sub>3</sub> selettivi, sono stati sintetizzati i derivati **28-37** recanti un gruppo arilammidico in posizione 8. Al contrario, per ottenere antagonisti A<sub>2A</sub>, l'ingombro sterico è stato introdotto in R<sub>6</sub> mantenendo il gruppo 8-amminico libero, e sono stati quindi sintetizzati i composti **38-47**.



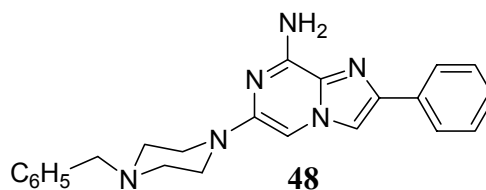
**Serie D**

**Tabella 5**

N	R <sub>2</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>8</sub>
<b>23</b>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	Br	NH <sub>2</sub>
<b>24</b>	4-OCH <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	Br	NH <sub>2</sub>
<b>25</b>	2-furil	Br	NH <sub>2</sub>
<b>26</b>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H	NH <sub>2</sub>
<b>27</b>	4-OCH <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	H	NH <sub>2</sub>
<b>28</b>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H	NHCOC <sub>6</sub> H <sub>5</sub>
<b>29</b>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H	N(COC <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub>
<b>30</b>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H	NHCOCH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>
<b>31</b>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H	NCH(C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub>
<b>32</b>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H	NHCO(4-CH <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )
<b>33</b>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H	NHCO(4-CH <sub>3</sub> OC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )
<b>34</b>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H	NHCO(2-furil)
<b>35</b>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H	NHCO(3-piridil)

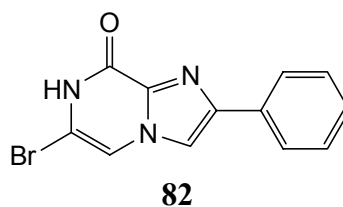
<b>36</b>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H	NHCONHC <sub>6</sub> H <sub>5</sub>
<b>37</b>	4-OCH <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	H	NHCOC <sub>6</sub> H <sub>5</sub>
<b>38</b>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	NH <sub>2</sub>
<b>39</b>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	4-ClC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	NH <sub>2</sub>
<b>40</b>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	3-CH <sub>3</sub> OC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	NH <sub>2</sub>
<b>41</b>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	4-CH <sub>3</sub> OC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	NH <sub>2</sub>
<b>42</b>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	4-(OCH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> )C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	NH <sub>2</sub>
<b>43</b>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	3-COOHC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	NH <sub>2</sub>
<b>44</b>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	3-(NHCOCH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> )C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	NH <sub>2</sub>
<b>45</b>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	2-furil	NH <sub>2</sub>
<b>46</b>	2-furil	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	NH <sub>2</sub>
<b>47</b>	2-furil	2-furil	NH <sub>2</sub>

Con lo stesso obiettivo, è stata progettata e realizzata la sintesi del derivato **48** (**Figura 48**) recante in posizione 6 un gruppo N-benzilpiperidinico.



**Figura 48**

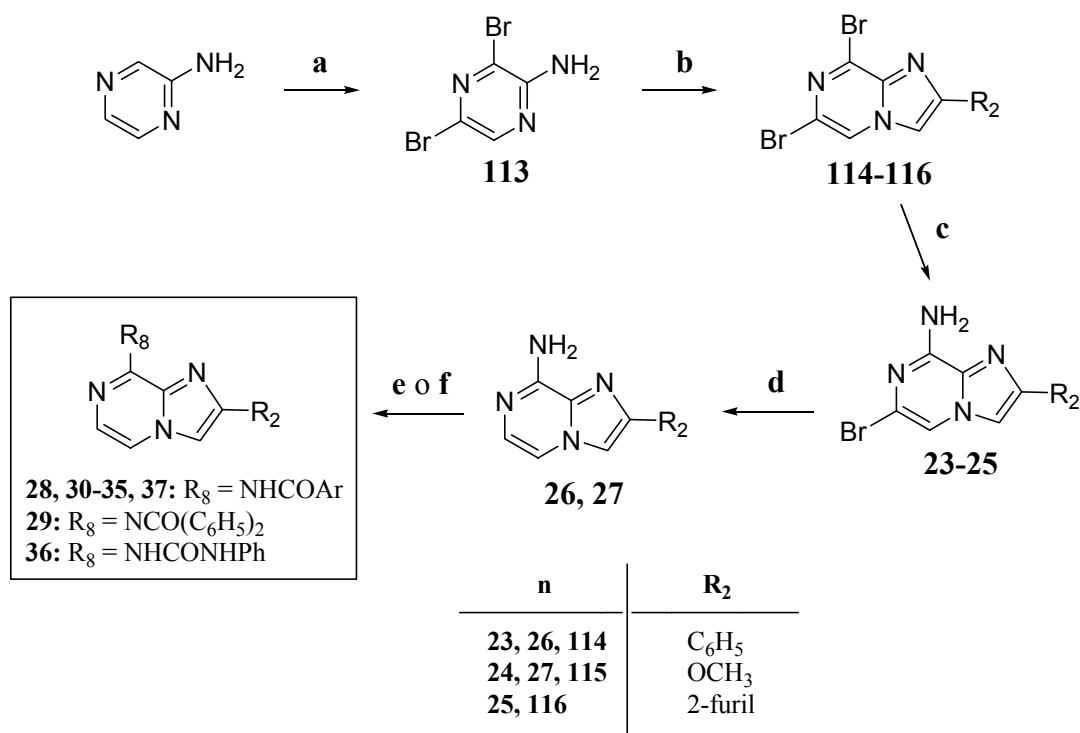
Accanto ai composti 8-ammino-sostituiti **23-48**, è stato sintetizzato anche il derivato 8-oxo sostituito **82** (**Fig. 49**), quale potenziale antagonista del recettore hA<sub>3</sub>.



**Figura 49**

Gli intermedi chiave per la preparazione dei derivati funzionalizzati nelle posizioni 8 (28-37) o 6 (38-47) sono rappresentati dai composti 6-bromo-8-ammino sostituiti (23-25) (Schema 11).

Schema 11



**a)**  $\text{Br}_2$ , Py dry, r.t.; **b)**  $\text{BrCH}_2\text{R}_2$ ,  $100^\circ\text{C}$ ; **c)** EtOH ass./ $\text{NH}_3$  gass.  $120^\circ\text{C}$ ; **d)**  $\text{H}_2$ , Pd/C; **e)**  $\text{ArCOX}$  (X = OH, Cl), r.t.; **f)** Ph-NCO, r.t.

La via sintetica seguita prevede come prodotto di partenza la 3,5-dibromo-2-amminopirazina **113**, ottenuta a sua volta per bromurazione con  $\text{Br}_2$  in piridina anidra del prodotto commerciale 2-amminopirazina. Per ciclizzazione “solvent free” di **113** con l’opportuno  $\alpha$ -bromochetone<sup>[128]</sup> sono stati ottenuti i 6,8-dibromo derivati **114** e **115**, con rese elevate. Un discorso a parte va fatto per la sintesi l’intermedio **116**, recante in posizione 2 un gruppo furilico.

L’  $\alpha$ -bromo-2-acetilfurano **117**, non è commerciale e viene preparato per bromurazione del prodotto commerciale 2-acetilfurano modificando una procedura riportata in letteratura<sup>[128]</sup>. Questa reazione porta all’ottenimento di una miscela ternaria (variabile in composizione) costituita dal monobromo-derivato **117**, da quantità paragonabili di  $\alpha,\alpha$ -dibromo-2-acetilfurano e da prodotto di partenza inalterato. Molti tentativi sono stati effettuati nell’intento di migliorarne le rese, modificando i parametri principali e



cioè temperatura, rapporti molari, modalità e tempi di aggiunta del bromo e tempi di reazione. Affinché la miscela sia il più possibile ricca in  $\alpha$ -bromo-2-acetilfurano **117**, è fondamentale che l'aggiunta di Br<sub>2</sub> alla soluzione cloroformica di 2-acetilfurano avvenga con tempi e modalità precise.

La successiva reazione di condensazione dell'amminopirazina **113** con l' $\alpha$ -bromo-2-acetilfurano nelle condizioni usate per la preparazione di **114** e **115**, non ha permesso di isolare il prodotto desiderato **116**. Sono state quindi considerate condizioni di reazione diverse. Fra i vari tentativi, uno di quelli effettuati con l'ausilio delle microonde, usando come solvente un liquido ionico, l'1-butil-3-metilimidazotetrafluoroborato, ha portato all'ottenimento, seppur con basse rese, del prodotto desiderato, garantendo quindi lo standard di riferimento. Il passo successivo è stato quindi quello di ottimizzare metodica e procedura. Inizialmente era stato ipotizzato che la difficoltà di ottenere **116** con la procedura utilizzata per gli analoghi **114** e **115** fosse legata alla scarsa purezza dell' $\alpha$ -bromochetone **117** che nella reazione veniva utilizzato in miscela con l' $\alpha,\alpha$ -dibromo-2-acetilfurano e l'acetilfurano di partenza. In realtà il problema era legato alla co-presenza di zolfo elementare (muto all'<sup>1</sup>H-NMR) formatosi nel processo ossidoriduttivo di eliminazione con sodio tiosolfato del Br<sub>2</sub> in eccesso. Eliminato il trattamento con Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, la procedura "solvent free" ha dato buoni risultati anche per la preparazione di **116**.

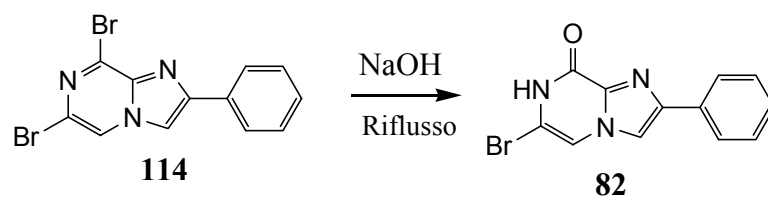
Tutti questi composti sono stati quindi amminati selettivamente in posizione 8 per reazione, in tubo chiuso a 120°C, con NH<sub>3</sub> gassosa in EtOH assoluto a dare gli intermedi chiave **23-25**.

La debromurazione in posizione 6, effettuata per idrogenazione catalitica, fornisce i derivati **26** e **27**. Gli 8-ammido derivati **28**, **29** e **37** sono stati ottenuti per reazione di **26** e **27** con benzoil cloruro in presenza di piridina anidra; per ottenere invece i composti **30-35**, l'8-ammino derivato **26** è stato fatto reagire in DMF anidra con gli opportuni acidi carbossilici in presenza di attivatori dei gruppi funzionali amminico e carbossilico: questo tipo di approccio ha generalmente richiesto tempi lunghi di reazione, dando però rese più che soddisfacenti.

Infine, l'8-fenil-ureido-derivato **36** è stato ottenuto facendo reagire l'8-ammino derivato **26** con il fenilisocianato in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> a temperatura ambiente.

La sintesi del 6-bromo-8-oxo-derivato è stata realizzata come riportato nello **Schema 12**, a partire dalla 6,8-dibromo-imidazo-pirazina **114** per trattamento con NaOH, in diossano.

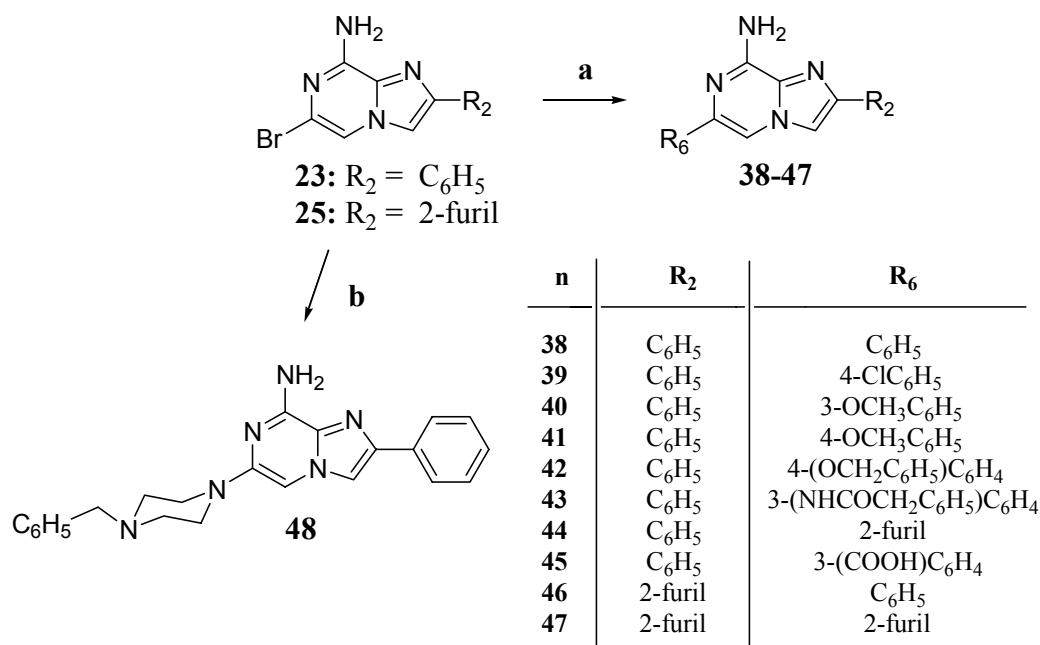
### Schema 12



La seconda via sintetica, riportata nello **Schema 13**, ha condotto ai 6-aril-derivati **38-47** progettati come antagonisti del recettore  $hA_{2A}$ . Tali composti sono stati ottenuti per reazione dei 6-bromo derivati **23** e **25** con l'opportuno acido boronico, in presenza di tetrakis e  $Na_2CO_3$  in DME/ $H_2O$ .

Accanto a questi derivati, erano state anche progettate alcune imidazopiridazin-8-ammine sostituite in posizione 6 con gruppi arilalchilamminici ad elevato ingombro sterico e flessibilità. L'amminazione dell'intermedio **23** con N-benzilpiperazina ha fornito il composto **48**.

### Schema 13



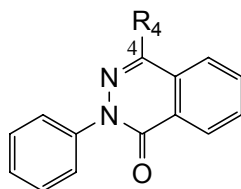
**a)**  $R_6B(OH)_2$  (Suzuki); **b)** N-benzilpiperazina

I primi tentativi sono stati condotti seguendo metodiche sintetiche emerse negli ultimi anni come innovative per la formazione dei legami C-N e considerate utili per superare

le difficoltà legate alle classiche procedure tipo Ullmann. Recentemente l'uso del rame come catalizzatore (CuI, CuOAc) associato ad opportuni agenti chelanti ha notevolmente migliorato le procedure sintetiche per ottenere arilammine a partire da aloderivati aromatici e arilalchilammine primarie<sup>[120]</sup>. Le condizioni meno drastiche utilizzate consentono di ridurre la formazione di peci e la degradazione dei reagenti. Inizialmente, utilizzando CuI come catalizzatore, cesio carbonato come base e 2-isobutirrilcicloesano come ligande, a temperature crescenti, in DMF anidro non si è pervenuti al derivato **48**, ma si è recuperato prodotto di partenza inalterato. Stressando le condizioni di reazione e ponendo **23** e la N-benzilpiperazina in tubo chiuso a 110°C oppure utilizzando le microonde ad una temperatura di 130-150°C, si ha debromurazione diretta di **23** in posizione 6 e formazione del derivato **26**. Questa reazione parassita è riportata in letteratura come evento probabile nelle amminazioni catalitiche<sup>[123]</sup>. Si è quindi cercato di utilizzare metodiche diverse<sup>[129-130]</sup> suggerite da altri ricercatori per abbattere la riduzione del bromo-derivato, ma il composto **26** ha continuato a rappresentare il prodotto principale della reazione di amminazione. A dispetto delle metodiche innovative, la reazione di **23** (50 mg) con la N-benzilpiperazina (rapporto molare 1:1:1) condotta con l'ausilio delle microonde, in presenza di potassio carbonato come base, in DMF anidro, ha consentito di ottenere il prodotto desiderato **48** con rese basse, ma riproducibili. Questo risultato lascia spazio alla possibilità di migliorare le condizioni di reazione per ottenere **48** con rese maggiori, tali da garantirne il quantitativo necessario per le prove biologiche.

## Sintesi dei derivati a struttura 1-oxo-2-fenilftalazinica 49-68 (Serie E)

I derivati 1-oxo-ftalazin-4-amminici **49-68**, disegnati quali antagonisti del recettore hA<sub>3</sub> dell'adenosina, e sintetizzati in questo lavoro di tesi, sono riportati in **Tabella 6**.



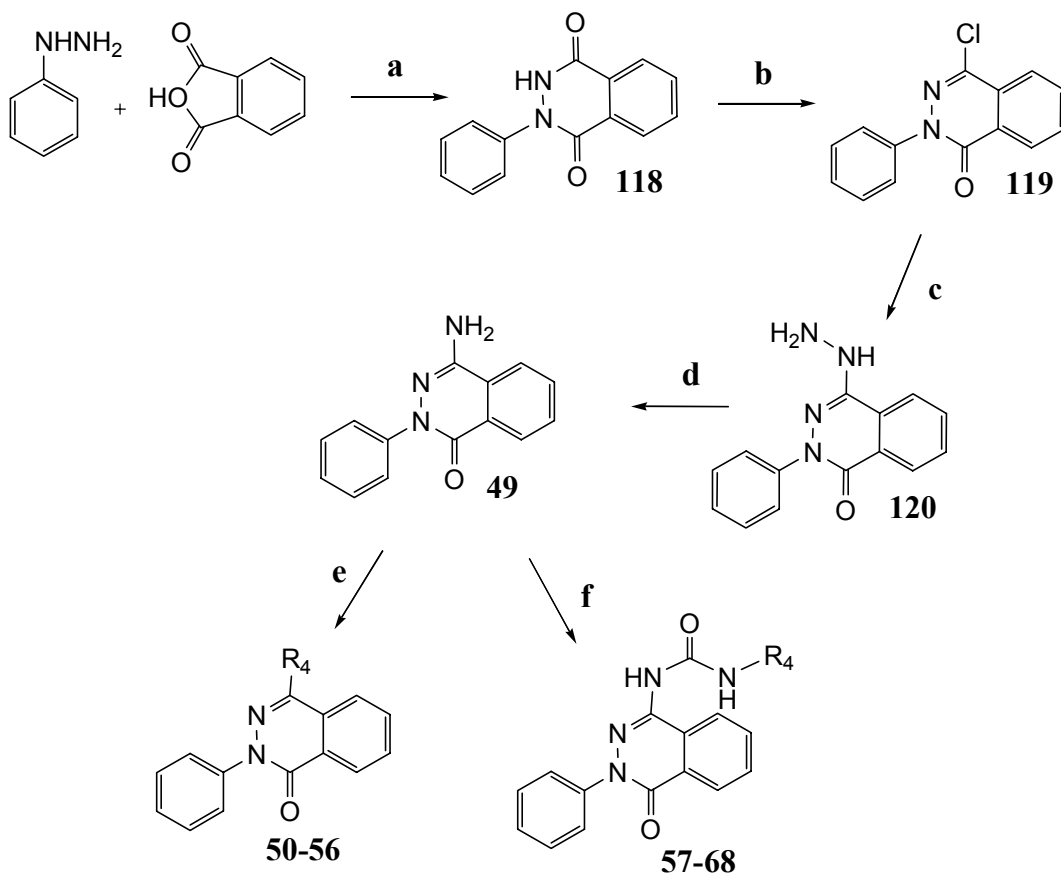
**Serie E**  
**49-68**

**Tabella 6**

N	R <sub>4</sub>
<b>49</b>	NH <sub>2</sub>
<b>50</b>	NHCOCH <sub>3</sub>
<b>51</b>	N(COCH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
<b>52</b>	NHCOC <sub>6</sub> H <sub>5</sub>
<b>53</b>	NHCOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -4Cl
<b>54</b>	NHCOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -4OCH <sub>3</sub>
<b>55</b>	NHCO(2-furil)
<b>56</b>	NHCOCH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>
<b>57</b>	NHCONHC <sub>6</sub> H <sub>5</sub>
<b>58</b>	NHCONHC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -4Cl
<b>59</b>	NHCONHC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -2Cl
<b>60</b>	NHCONHC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -4OCH <sub>3</sub>
<b>61</b>	NHCONHC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -3OCH <sub>3</sub>
<b>62</b>	NHCONHC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -2OCH <sub>3</sub>
<b>63</b>	NHCONHC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -4CH <sub>3</sub>
<b>64</b>	NHCONHC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -2CH <sub>3</sub>
<b>65</b>	NHCONHC <sub>6</sub> H <sub>3</sub> -2,4OCH <sub>3</sub>
<b>66</b>	NHCONHC <sub>6</sub> H <sub>3</sub> -2,5OCH <sub>3</sub>
<b>67</b>	NHCONHCH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>
<b>68</b>	NHCONHCH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -2OCH <sub>3</sub>

La sintesi dei composti **50-68** è stata realizzata come riportato nello **Schema 14**, utilizzando quale intermedio chiave l'8-ammino-derivato **49**.

**Schema 14**



**a)** 10% HCl; **b)** POCl<sub>3</sub>; **c)** NH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>·xH<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, NH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, glicole etilenico; **d)** H<sub>2</sub>, Raney-Nikel, EtOH; **e)** RCOCl, piridina, THF; **f)** RNCO, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> or THF.

Facendo reagire l'anidride ftalica con un eccesso di fenilidrazina si ottiene il 4-idrossi-2-fenilftalazin-1(2H)-one **118**<sup>[121-122]</sup> che è trattato con POCl<sub>3</sub> a dare il corrispondente 4-cloroderivato **119**<sup>[122]</sup>. La reazione successiva di **119** con idrazina solfato e idrazina anidra in glicole etilenico ha condotto al 4-idrazino derivato **120**, che è stato ridotto con H<sub>2</sub> in presenza di catalizzatore Nickel-Raney a dare il corrispondente 4-ammino-2-fenilftalizin-1(2H)-one **49** con buone rese.

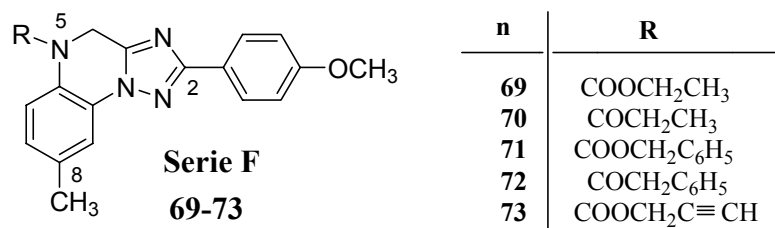
I composti 4-aroilammino-2-fenilftalazin-1(2H)-one (**50-56**) sono ottenuti facendo reagire **49** con l'opportuno aroil cloruro in presenza di piridina. La reazione di formazione del 4-acetilammino-derivato **50**, ottenuto per trattamento di **49** con acetil

cloruro, ha portato anche all'ottenimento del corrispondente diacetilammino-derivato **51**.

Facendo reagire invece **49** con l'opportuno aril- o alchil-isocianato si sono ottenuti i corrispondenti 4-ureido-derivati **57-68**.

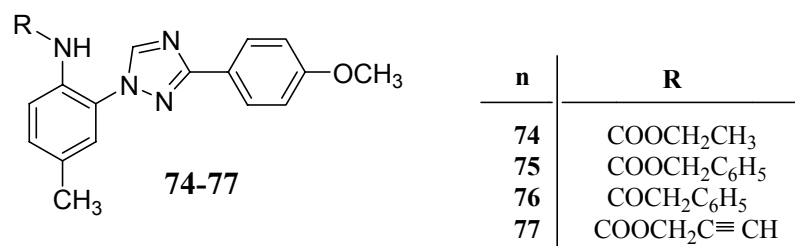
**Sintesi dei composti a struttura triazolo[1,5-a]chinossalinica 69-73  
(Serie F) e degli analoghi di semplificazione molecolare 74-77 (Serie G)  
e 78-81(Serie H)**

Uno degli obiettivi della tesi di ricerca da me svolta ha riguardato la sintesi di composti a struttura 1,2,4-triazolo[1,5-a]chinossalinica (**Fig. 50**) variamente sostituiti sull'atomo di azoto in 5, quali antagonisti del recettore hA<sub>3</sub>. In posizione 5 sono stati introdotti sostituenti a diverso ingombro sterico, mantenendo invece fissi il gruppo metilico in 8 ed un gruppo 4-metossilico sul fenile in 2, così come suggerito dai dati di letteratura.



**Figura 50**

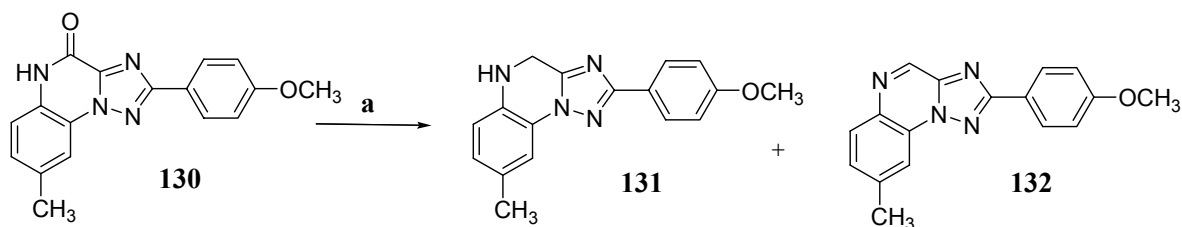
Un ulteriore sviluppo di questo lavoro di tesi ha riguardato la sintesi di nuovi 1,3-diaril-1,2,4-triazoli **74-77** (**Fig 51**) che rappresentano i derivati aperti dei composti triciclici **69-73** (**Fig. 50**).



**Figura 51**

L'intermedio chiave per la sintesi dei derivati **69-73** è rappresentato dal composto triciclico 4-oxo-sostituito **130**<sup>[94]</sup>, la cui funzione 4-oxo- viene successivamente ridotta a gruppo metilenico utilizzando come riducente il litio-alluminio idruro (**Schema 15**). Da tale reazione, pur operando in atmosfera di gas inerte, si ottiene una miscela, in genere in rapporto 2:1 (dosaggio NMR), costituita dal prodotto desiderato (**131**), e dal corrispondente derivato deidrogenato in posizione 4,5 **132**.

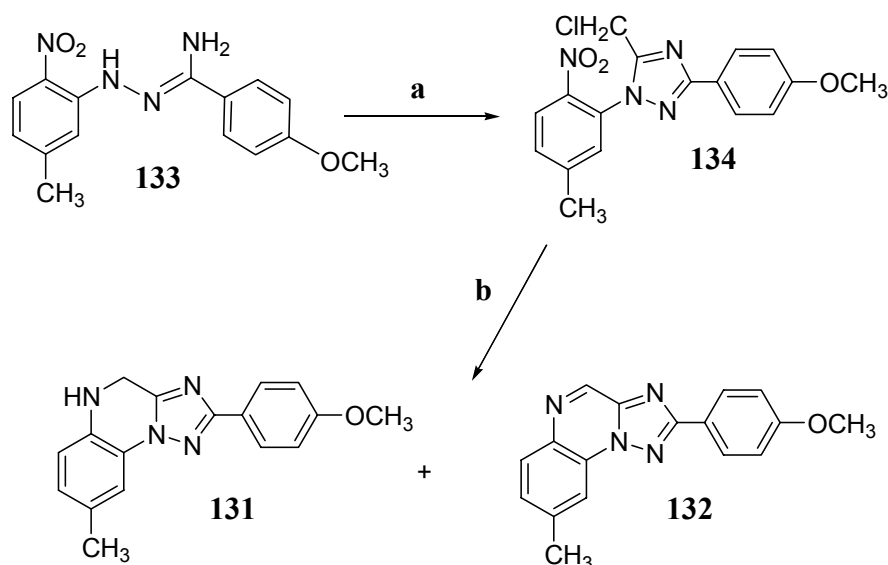
**Schema 15**



**a)** LiAlH<sub>4</sub>, THF, N<sub>2</sub>, Δ

Allo scopo di ridurre il numero di steps ed aumentare la resa del derivato **131** è stata progettata e realizzata una diversa via sintetica. In questo caso l'intermedio chiave, rappresentato dall'amidrazone **133**<sup>[94]</sup>, è stato fatto reagire con cloro-acetilcloruro in toluene a caldo a dare il 5-clorometil-triazolo **134** (**Schema 16**). Per riduzione del nitro gruppo di **134** con cloruro di stagno diidrato in etanolo a caldo e contemporanea ciclizzazione si ottiene direttamente il 4,5-diidroderivato **131** in miscela con il composto 4,5-deidro **132**.

**Schema 16**

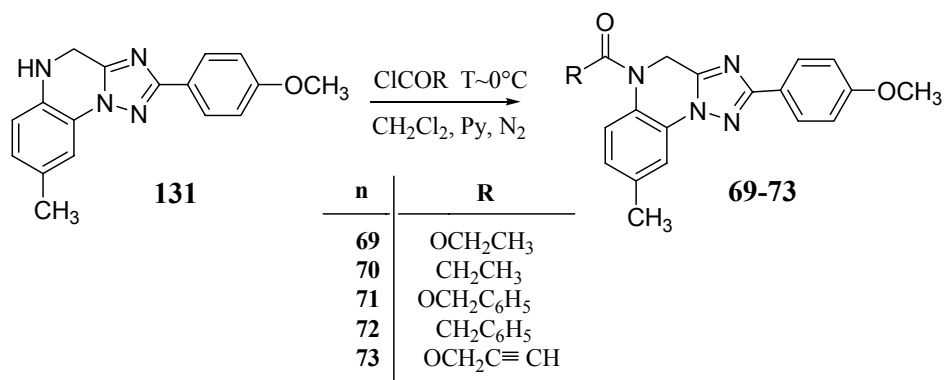


**a)** cloroacetilcloruro, toluene,  $\Delta$ ; **b)**  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , EtOH,  $\Delta$ .

Questa via sintetica ha permesso di ottenere **131** con uno step in meno rispetto a quelli previsti nella procedura sintetica originale<sup>[94]</sup>, ma soprattutto di aumentare la resa del derivato **131**, dall'11% al 40%, valutata a partire dall'amidrazone **133**, intermedio comune alle due vie sintetiche.

Per reazione di **131** con l'opportuno cloruro acido a bassa temperatura ed in atmosfera di azoto si ottengono i derivati 5-sostituiti **69-73** (Schema 17). La miscela di reazione viene purificata per cromatografia su colonna di silice al fine di eliminare il prodotto deidrogenato **132**.

**Schema 17**

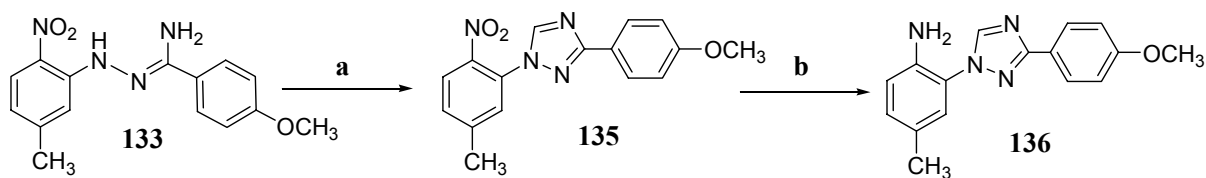




### Sintesi dei derivati di semplificazione molecolare 74-77 (Serie G)

La sintesi dei derivati aperti **74-77** (Serie G) è stata realizzata a partire dall'intermedio **133** seguendo la procedura sintetica mostrata negli **Schemi 18 e 19**.

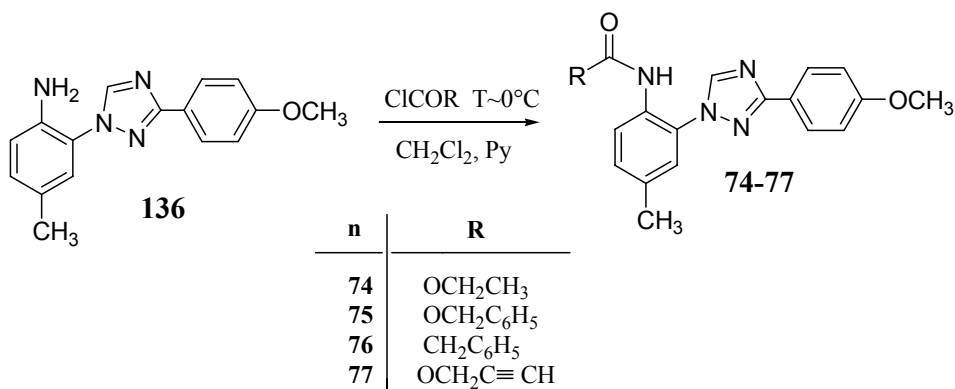
**Schema 18**



a) PTSA, HC(OEt)<sub>3</sub>, Δ; b) H<sub>2</sub>, Pd/C.

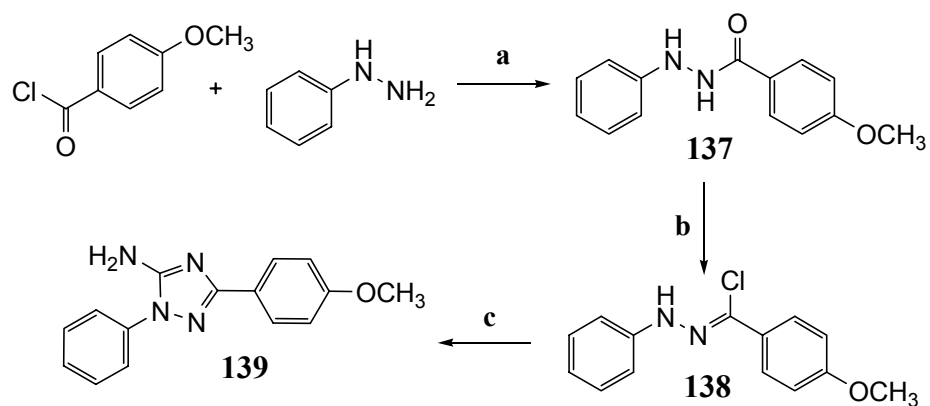
Per reazione dell'amidrazone **133** con ortoformiato di etile in presenza di acido p-toluensolfonico si ottiene il derivato triazolico **135**. Successivamente, per riduzione del gruppo nitro di **135** con idrogeno e Pd/C si ottiene il corrispondente amino-derivato **136** (**Schema 18**), che trattato con l'opportuno cloruro acido o clorocarbonato a bassa temperatura fornisce i prodotti finali **74-77** (**Schema 19**).

**Schema 19**



Altri derivati aperti (**78-81**, Serie H) sono stati invece ottenuti a partire dall'intermedio chiave **137**<sup>[110]</sup>, preparato a partire dal p-anisolo cloruro per reazione con la fenilidrazina (**Schema 20**). Il composto **138**, ottenuto per clorurazione di **137**, non risulta stabile all'aria, per cui non è stato possibile effettuarne la caratterizzazione. Esso viene immediatamente utilizzato per il passaggio successivo di chiusura (**Schema 20**) con cianammide, in una reazione in condizioni "solvent free".

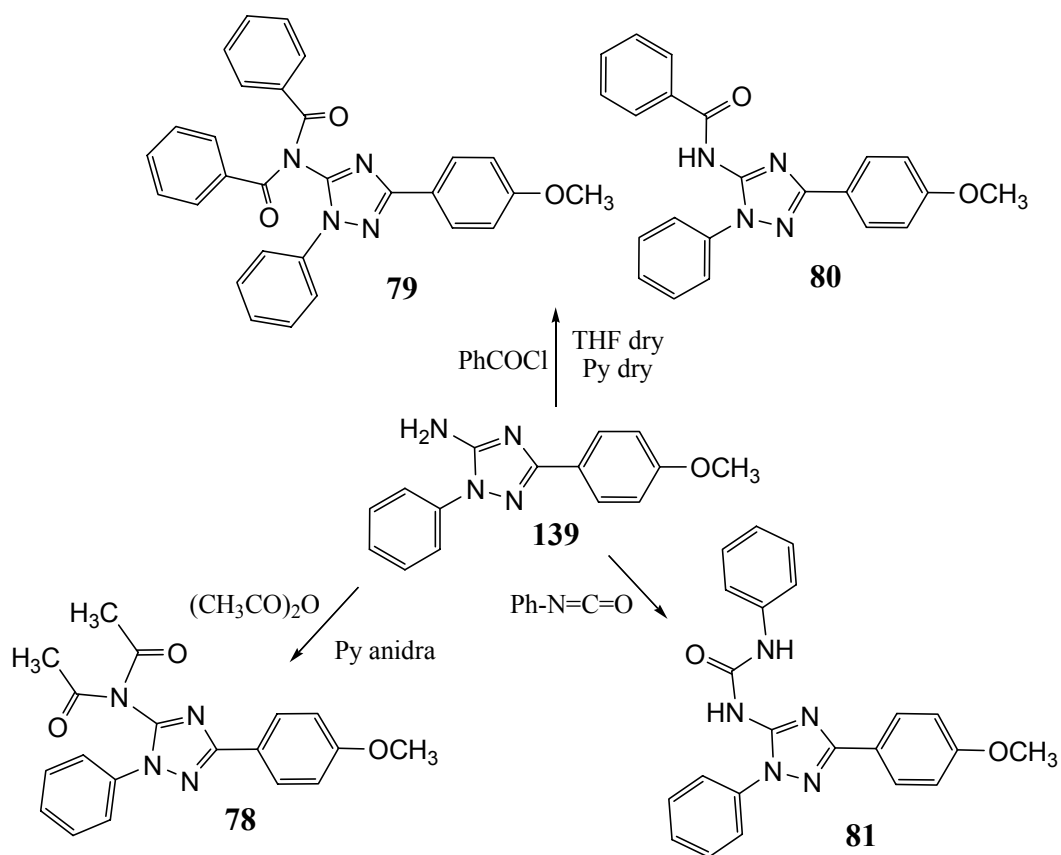
### Schema 20



**a)** Py anidra; **b)** POCl<sub>3</sub>, PCl<sub>5</sub>; **c)** cianammide, reazione a fusione.

Si ottiene l'intermedio **139**, utilizzato per la sintesi dei prodotti finali **78-81** (Schema 21).

### Schema 21



Nella acetilazione di **139** con anidride acetica, nonostante si utilizzi un rapporto equimolare, si ottiene soltanto il derivato bi-acilato **78**, mentre utilizzando il benzoil-cloruro si ottiene una miscela di **79** e **80**. Per quanto riguarda infine il derivato ureidico **81**, esso si ottiene facendo reagire l'intermedio **139** con il fenil-isocianato a temperatura ambiente.

## **4. RISULTATI E CONCLUSIONI**

Tutti i composti sintetizzati in questa tesi di dottorato sono stati sottoposti a studi di binding eseguiti presso il Dipartimento di Psichiatria, Neurobiologia, Farmacologia e Biotecnologia dell'università di Pisa, dal gruppo diretto dalla Prof. Martini e presso il Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, sezione di Farmacologia dell'Università di Ferrara, dal gruppo del Prof. Borea.

La valutazione del binding sui recettori  $A_1$ ,  $A_{2A}$  e  $A_3$  è stata effettuata sui recettori clonati, stabilmente espressi in cellule CHO (Chinese Hamster Ovary) utilizzando diversi ligandi marcati per sottotipo recettoriale.

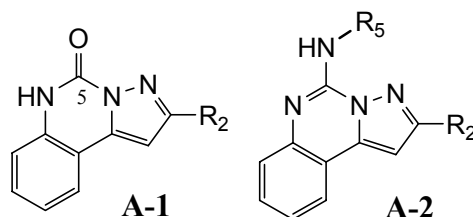
Per gli studi sul recettore  $A_1$  è stato usato [ $^3H$ ]1,3-dipropil-8-ciclopentil-xantina ([ $^3H$ ]-DPCPX), agonista specifico  $A_1$ , mentre sul recettore  $A_{2A}$  il binding è stato valutato utilizzando il ligande marcato [ $^3H$ ]-5'-(N-etilcarbrossamido)adenosina ([ $^3H$ ]-NECA). Le prove sui recettori umani  $A_3$  clonati sono state effettuate su cellule CHO valutando lo spiazzamento del ligande marcato, agonista selettivo, [ $^{125}I$ ]-N<sup>6</sup>-(4-amino-3-iodobenzil)-5'-(N-metilcarbamoil)adenosina ([ $^{125}I$ ]-AB-MECA). Le prove sui recettori  $A_{2B}$  sono invece di tipo funzionale e sono state effettuate valutando l'effetto inibitorio dei prodotti in esame sui livelli di AMPc, la cui liberazione è stimolata da NECA in cellule CHO contenenti i recettori  $A_{2B}$ .

L'affinità verso i recettori  $A_1$ ,  $A_{2A}$  e  $A_3$  è espressa come costante di inibizione ( $K_i$ ) o come percentuale di inibizione (I%) alle concentrazioni 10 $\mu$ M per i recettori  $A_1$  e  $A_{2A}$ , e 1 $\mu$ M per il sottotipo  $A_3$ . L'attività inibitoria sui recettori  $A_{2B}$  è espressa invece come IC<sub>50</sub> o come percentuale di inibizione alla concentrazione di 1 $\mu$ M.

Gli studi di Molecular Docking sono stati effettuati presso il Dipartimento di Scienze Farmaceutiche dell'Università di Padova, Sezione di Molecular Modeling, dal gruppo del Prof. S. Moro. Il modello del recettore hA<sub>3</sub><sup>[89]</sup> utilizzato è stato costruito usando come templatato la struttura della rodopsina bovina, ampiamente accettata come modello dei recettori accoppiati a proteine G.

**Relazioni struttura-attività dei composti a struttura pirazolo[1,5-c]chinazolinica 1-13 (Serie A: A-1 e A-2) e dei derivati di semplificazione molecolare 14-16 (Serie B) e 17-22 (Serie C)**

I risultati delle prove di binding dei prodotti riconducibili alla **Serie A (A-1 e A-2)** sono riportati nella **Tabella 7**.



**Tabella 7**

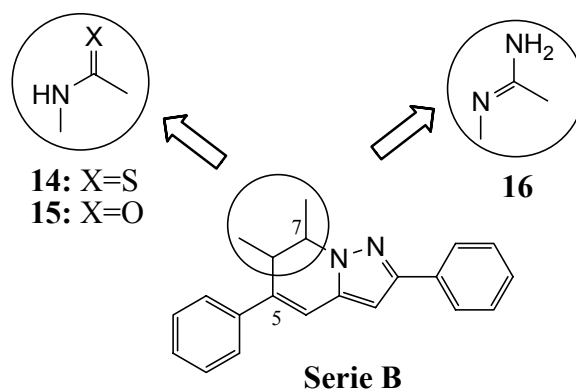
	N	R <sub>2</sub>	R <sub>5</sub>	hA <sub>3</sub> (CHO cells)	hA <sub>2A</sub> (CHO cells)	hA <sub>2B</sub> AMPC assay	hA <sub>1</sub> (CHO cells)
<b>A-1</b>	<b>1</b>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	-	28%	1%	4%	12%
	<b>2</b>	4-OCH <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	-	<b>100±12</b>	1%	2%	4%
	<b>3</b>	2-furil	-	<b>80±7</b>	1%	3%	5%
	<b>4</b>	2-tienil	-	<b>40±3</b>	20%	6%	7%
	<b>5</b>	2-piridil	-	<b>252±13</b>	1%	2%	4%
	<b>6</b>	COOEt	-	<b>315±20</b>	5%	3%	3%
	<b>7</b>	COOCH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	-	1%	4%	2%	3%
	<b>8</b>	COONHCH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	-	25%	5%	1%	2%
<b>A-2</b>	<b>9</b>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H	15%	5%	3%	1%
	<b>10</b>	4-OCH <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	H	45%	15%	3%	7%
	<b>11</b>	2-furil	H	35%	<b>80±9</b>	<b>120±13</b>	<b>35±2</b>
	<b>12</b>	2-tienil	H	18%	20%	3%	44%
	<b>13</b>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	COC <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	<b>520±60</b>	1%	4%	13%

Dall'analisi di questi dati, risulta evidente che i derivati 2-fenil-sostituiti **1 (Serie A-1)** e **9 (Serie A-2)** sono totalmente inattivi su tutti e quattro i sottotipi recettoriali. Questo risultato è apparentemente inspiegabile considerando il fatto che composti tricyclici analoghi appartenenti alle serie **TQX**<sup>[71,93,94]</sup>, **1-oxo-TQX**<sup>[85-92]</sup> e **PQ**<sup>[96-98]</sup> (**Fig. 35**) si sono rivelati antagonisti potenti e selettivi. In particolare, non prevedibile è l'inattività sul recettore hA<sub>3</sub> del derivato 5-oxo-sostituito **1** e quella sui tre recettori A<sub>1</sub>, A<sub>2A</sub> ed A<sub>3</sub> del 5-NH<sub>2</sub> corrispondente **9**. Paragonando lo scaffold pirazolochinazolinico con i

sistemi **TQX** e **1-oxo-TQX**, l'inattività potrebbe ascriversi alla mancanza dell'azoto in posizione 1 (N-1). In studi di molecular modeling sulle serie **TQX** e **1-oxo-TQX** è stato dimostrato che la presenza di un atomo che può funzionare da accettore di protoni a questo livello può avere un ruolo importante per una interazione efficace con il recettore  $A_3$ <sup>[105]</sup>. Questa ipotesi però è in contrasto con il dato riguardante la serie delle pirazolochinoline (**PQ**, **Fig. 35**) che, pur essendo prive dell'azoto in posizione 1, hanno un'affinità elevata sul recettore  $hA_3$ . Una spiegazione plausibile, che dovrà essere dimostrata da studi di molecular modeling, è che nelle pirazolochinazoline qui studiate, l'azoto in posizione 3 (N-3) sia meno basico (e quindi un accettore meno potente) rispetto a quello situato nella medesima posizione dei derivati **PQ** (**Fig. 35**). Gli studi di docking sono in corso presso l'Università di Camerino e vengono effettuati dal Dott. Dal Ben, membro del gruppo di ricerca della Prof. ssa Cristalli. L'inattività recettoriale dei composti **1** e **9** è probabilmente dovuta ad una interazione ligande-recettore globalmente più debole rispetto a quelle che sono in grado di instaurare i leads. Le interazioni meno efficaci potrebbero ascriversi ai legami a idrogeno che lo scaffold pirazolo-chinazolinico è in grado di formare con i siti di legame a livello recettoriale. Questa ipotesi può essere avvalorata dall'analisi dei dati di binding dei composti 4-oxo-sostituiti **3-5**, che presentano affinità nell'ordine del nanomolare sul recettore  $hA_3$  (**Serie A-1**, **Tab. 7**), quando confrontati con il dato del 2-fenil-derivato **1** totalmente inattivo. Appare evidente che l'introduzione in posizione 2 del sistema tricyclico dei gruppi furilico (**3**), tienilico (composto **4**), e piridinico (derivato **5**) produce un drammatico aumento della attività di binding. E' ragionevole supporre che l'eteroatomo presente sull'eteroarile introdotto in posizione 2 tenda a rafforzare il legame con il recettore. La medesima considerazione può essere fatta per il derivato 5-ammino-2-furil-sostituito **11** (**Serie A-2**) che presenta elevata affinità per i recettori  $A_{2A}$ ,  $A_{2B}$  ed  $A_3$  e comunque superiore a quella dell'analogo 2-fenil-sostituito **9**, che è totalmente inattivo. Difficilmente razionalizzabile il dato di inattività dell'analogo 2-tienilico **12**. Invece, la buona affinità del derivato 2-(4-metossifenil)-sostituito **2** (**Serie A-1**) era attesa sulla base delle SAR di analoghi antagonisti  $A_3$  a struttura tricyclica: il gruppo 4-metossilico viene considerato importante per aumentare affinità e potenza verso il sottotipo  $hA_3$ , andando ad instaurare un legame ad idrogeno con un residuo amminoacidico del sito recettoriale<sup>[91,94,96]</sup>. Anche l'attività di binding, seppur modesta, del derivato 2-carbossietil-sostituito **6** può essere giustificata ammettendo che il gruppo 2-COOEt vada a rafforzare le interazioni con il recettore  $A_3$  svolgendo il ruolo di

accettore di protoni in un legame ad idrogeno, essendo trascurabile il suo contributo idrofobico. Deleteria è invece l'introduzione in 2 di un gruppo benzil-carbossilico (derivato **7**) oppure benzil-carbossammidico (composto **8**). L'aumento di lipofilia e di ingombro sterico porta ad una perdita totale dell'attività su tutti e quattro i sottotipi recettoriali, probabilmente per l'assenza di una tasca in grado di accogliere questi gruppi. Analoghe sostituzioni nella serie **TQX** (**Fig. 35**) avevano invece condotto a composti affini per il recettore hA<sub>3</sub><sup>[90]</sup>. Invece, l'aumento di lipofilia della molecola ligande e dell'ingombro del sostituente, passando dal derivato 4-NH<sub>2</sub>-sostituito **9** al corrispondente 4-benzoil-amino derivato **13**, determina, un miglioramento del binding sul recettore hA<sub>3</sub>, che era atteso sulla base delle SAR di analoghi antagonisti triciclici<sup>[85-92]</sup>. Oltre ad un incremento delle interazioni idrofobiche a questo livello, importanti risultano essere anche i legami a idrogeno che vengono ad instaurarsi fra il gruppo ammidico in posizione 5 e la proteina recettoriale.

Per quanto riguarda, invece i composti a struttura pirazolo[1,5-c]pirimidinica **14-16** (**Serie B**), i dati biologici riportati in **Tabella 8** indicano che i composti studiati derivanti dalla semplificazione molecolare dei leads triciclici (**Serie A**) risultano essere completamente inattivi su tutti i sottotipi recettoriali.



**Tabella 8**

N	R <sub>5</sub>	X	hA <sub>3</sub> (CHO cells)	hA <sub>2A</sub> (CHO cells)	hA <sub>2B</sub> AMPC assay	hA <sub>1</sub> (CHO cells)
<b>14</b>	-	S	1%	1%	5%	3%
<b>15</b>	-	O	1%	1%	6%	2%
<b>16</b>	NH <sub>2</sub>	-	30%	15%	3%	26%

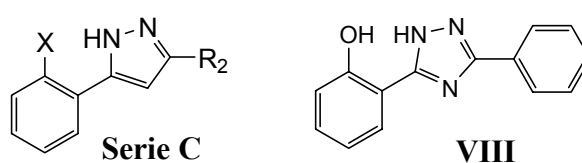
I primi composti sintetizzati sono i termini più semplici della serie, presentano un gruppo fenilico in posizione 5, e sono stati ottenuti attraverso una via sintetica molto



semplice. Tali composti sono stati progettati in quanto presentano i requisiti strutturali necessari per l'interazione sia con il recettore A<sub>3</sub> (composti **14** e **15**) che con il sottotipo A<sub>2A</sub> (derivato **16**). Una possibile spiegazione di questa loro inattesa inattività è la possibilità che tali composti instaurino deboli interazioni di legame a idrogeno con il sito di binding, così come ipotizzato per i leads triciclici a struttura pirazolo[1,5-c]chinazolinica (**Serie A**). Nei derivati della **Serie B**, inoltre, la mancanza del benzo-fuso riduce anche le interazioni di tipo idrofobico e non permette la giusta complementarità con il sito recettoriale. Accanto a questa ipotesi, comunque da verificare, può coesistere la possibilità che queste strutture siano eccessivamente rigide, e quindi mal si adatterebbero ai siti di interazione A<sub>3</sub> (composti **14** e **15**) ed A<sub>2A</sub> (derivato **16**).

Sono in corso studi per l'individuazione di una nuova via sintetica che permetta, mantenendo la funzione amminica primaria in 7, di inserire, in posizione 5, al posto del gruppo fenilico, sostituenti arilalchilici o arilalchilamminici ad elevata flessibilità in modo da indirizzare l'affinità verso il recettore hA<sub>2A</sub>. Anche l'introduzione di piccoli alchili oppure un atomo di idrogeno in posizione 5, mantenendo la funzione 7-oxo, con l'intento di spostarsi invece sul recettore hA<sub>3</sub>, prevede la messa a punto di una nuova procedura sintetica.

Accanto ai prodotti progettati *ad hoc*, sono stati testati anche i composti a struttura 3,5-diarilpirazolica (**Serie C**, **Tab. 9**) che rappresentano gli intermedi di sintesi dei leads triciclici pirazolochinazolinici (**Serie A**).



**Tabella 9**

N	R <sub>2</sub>	X	hA <sub>3</sub> (CHO cells)	hA <sub>2A</sub> (CHO cells)	hA <sub>2B</sub> AMPC assay	hA <sub>1</sub> (CHO cells)
<b>17</b>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	OH	7%	1%	4%	13%
<b>18</b>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	NH <sub>2</sub>	<b>680±62</b>	1%	2%	9%
<b>19</b>	4-CH <sub>3</sub> OC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	NH <sub>2</sub>	<b>480±53</b>	9%	5%	2%
<b>20</b>	2-furil	NH <sub>2</sub>	1%	6%	1%	4%
<b>21</b>	2-tienil	NH <sub>2</sub>	<b>600±57</b>	1%	3%	2%
<b>22</b>	COOEt	NH <sub>2</sub>	23%	1%	2%	3%
<b>VIII</b>	-	-	39%	2%	8%	47%

L'intento è quello di verificare se strutture più semplici mantengono o meno affinità recettoriale. Questo nasce, come già detto, dall'esigenza di disporre di sostanze dotate di migliori proprietà chimico-fisiche, e quindi da maggiore biodisponibilità. Possiamo affermare che, nonostante l'estrema semplificazione strutturale, i composti **18-20** mostrano affinità per il recettore hA<sub>3</sub>, ed anche selettività, essendo totalmente inattivi sugli altri recettori. Questo è da considerarsi un buon risultato che potrà portare allo sviluppo di nuovi derivati funzionalizzati con gruppi opportuni (ad esempio acili) sull'NH<sub>2</sub> in posizione *orto* sul fenile in 3(5), al fine di aumentare l'affinità per questo sottotipo recettoriale. Tutto ciò comporterà comunque la necessità di individuare una nuova via sintetica che permetta di introdurre selettivamente il gruppo acilico nella posizione desiderata, essendo presenti sui derivati **17-22** due centri basici similmente reattivi.

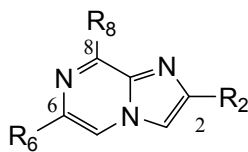
L'analogia strutturale con il derivato 3,5-diaryl-1,2,4-triazolo **VIII** è evidente: infatti il pirazolo **17** ne rappresenta il corrispondente 4-deazo-derivato. Dai risultati di binding riportati in letteratura, emerge che **VIII** è un antagonista del recettore hA<sub>2A</sub> (K<sub>i</sub> = 700 nM)<sup>[103]</sup>. Questi dati non sono in accordo con i risultati biologici ottenuti nei nostri laboratori. Infatti **VIII** non è risultato affine né per il recettore hA<sub>2A</sub>, né per nessun altro sottotipo, in analogia al derivato pirazolico **17**.

### **Relazioni struttura-attività dei composti a struttura imidazo[1,2-a]pirazinica 23-48 (Serie D)**

I risultati di binding riportati nelle **Tabelle 10 e 11** mostrano che i sostituenti introdotti nelle posizioni 2, 6 e 8 del nuovo scaffold, hanno condotto in generale a composti attivi e selettivi per il recettore hA<sub>3</sub> ed hanno aperto la strada per lo sviluppo di antagonisti del recettore hA<sub>2A</sub>.

I primi composti progettati e sintetizzati come antagonisti del recettore hA<sub>3</sub> (**Tab. 10**) sono i derivati 2-fenil sostituiti **28 e 29** ottenuti dalla benzoilazione del composto **26**, 8-ammino sostituito. Tali prodotti, oltre a presentare un'affinità nanomolare per il recettore hA<sub>3</sub> (rispettivamente K<sub>i</sub> = 52 e 64 nM), possiedono un'ottima selettività in quanto sono completamente inattivi sugli altri sottotipi recettoriali.

**Derivati imidazopirazinici 23-37 quali antagonisti del recettore hA<sub>3</sub>.**



**Serie D**

**Tabella 10**

N	R <sub>2</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>8</sub>	hA <sub>3</sub> (CHO cells)	hA <sub>2A</sub> (CHO cells)	hA <sub>2B</sub> AMPC assay	hA <sub>1</sub> (CHO cells)
23	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	Br	NH <sub>2</sub>	14%	18%	40%	<b>420±40</b>
24	4-OCH <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	Br	NH <sub>2</sub>	24%	11%	27%	29%
25	2-furil	Br	NH <sub>2</sub>	28%	<b>265±21</b>	29%	<b>210±18</b>
26	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H	NH <sub>2</sub>	12%	13%	30%	30%
27	4-OCH <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	H	NH <sub>2</sub>				
28	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H	NHCOC <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	<b>52±5</b>	1%	2%	18%
29	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H	N(COC <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub>	<b>64±6</b>	5%	3%	4%
30	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H	NHCOCH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	<b>524±47</b>	37%	15%	46%
31	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H	NHCOCH(C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub>	<b>245±22</b>	1%	25%	32%
32	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H	NHCO(4-CH <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	45%	21%	10%	26%
33	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H	NHCO(4-CH <sub>3</sub> OC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	<b>162±14</b>	3%	1%	1%
34	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H	NHCO(2-furil)	40%	34%	19%	25%
35	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H	NHCO(3-piridil)	42%	13%	22%	24%
36	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H	NHCONHC <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	6%	1%	1%	1%
37	4-OCH <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	H	NHCOC <sub>6</sub> H <sub>5</sub>				

Questi dati si sono rivelati molto soddisfacenti ed hanno incoraggiato a sintetizzare altri acil-derivati (**30-35, 37**) che portano in posizione 8 una funzione ammidica, recante sostituenti con caratteristiche elettroniche, lipofile e di ingombro sterico tra loro diverse. La scelta dei sostituenti non è stata casuale, ma basata sulle SAR di analoghi triciclici, antagonisti potenti e selettivi per questo sottotipo recettoriale<sup>[92,97]</sup>. I sostituenti inseriti non hanno però migliorato l'affinità per il recettore hA<sub>3</sub>, anzi in molti casi si è avuta una drammatica riduzione. Questi risultati sono assolutamente inattesi ed in disaccordo con i dati riportati in letteratura da cui siamo partiti. Solo i composti **31** e **33** mantengono una certa affinità per il recettore hA<sub>3</sub>, anche se da 3 a 5 volte inferiore rispetto ai derivati **28** e **29**.

Anche l'introduzione di un gruppo fenil-ureidico (derivato **36**) in grado di dare una interazione di legame a idrogeno più forte rispetto al gruppo benzammidico (derivato

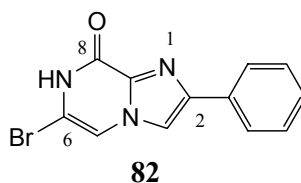
**28**), non ha condotto ad un miglioramento, ma ad una drammatica riduzione dell'affinità per il recettore hA<sub>3</sub>. Quando confrontato con il dato hA<sub>3</sub> del derivato isosterico benzilamidico **30** (K<sub>i</sub> = 524 nM), l'inattività di **36** è difficilmente razionalizzabile.

L'introduzione del gruppo 4-OCH<sub>3</sub> sul fenile in posizione 2 ha condotto alla sintesi del derivato **37** di cui ad oggi non sono disponibili i dati di binding. Questa modifica è stata effettuata con l'intento di aumentare affinità e selettività per il recettore hA<sub>3</sub> seguendo i suggerimenti ottenuti dalle SAR su leads triciclici <sup>[91,94,96]</sup>.

Accanto ai derivati acil-sostituiti **28-37**, ci è sembrato interessante saggiare sui recettori dell'adenosina anche i derivati 4-ammino-sostituiti **26**, **27** ed i loro precursori **23**, **24** recanti in posizione 6 un atomo di bromo. Infatti, questi composti presentano tutti i requisiti ritenuti importanti per l'interazione con i tre sottotipi recettoriali A<sub>1</sub>, A<sub>2A</sub> ed A<sub>3</sub>. Inoltre, il gruppo metossilico, come già detto, è stato introdotto con l'intento di aumentare la selettività A<sub>3</sub>. Un dato interessante è rappresentato dall'affinità, seppur modesta, mostrata dal 6-bromo-derivato **23** per il recettore hA<sub>1</sub>. Tale composto potrà rappresentare il punto di partenza per lo sviluppo di nuovi antagonisti del recettore hA<sub>1</sub> dell'adenosina potenzialmente utili nelle patologie neurodegenerative acute e croniche <sup>[17-19]</sup>.

Il composto **25**, recante un gruppo 2-furilico, è stato sintetizzato allo scopo di spostare l'attività verso il recettore hA<sub>2A</sub> e quindi di sviluppare nuovi antagonisti per questo sottotipo recettoriale <sup>[104]</sup>. Gli stati di avanzamento di questo progetto sono riportati in **Tabella 11**. Comunque, i dati riguardanti il composto **25**, riportati in **Tabella 10** mostrano, rispetto all'analogo 2-feni-sostituito **23**, un leggero aumento dell'affinità per il recettore hA<sub>1</sub> e la comparsa di attività sul recettore hA<sub>2A</sub>. Questo è un dato importante perché indica che la presenza di un gruppo furilico in posizione 2 non sembra importate solo per la selettività, ma fondamentale per l'affinità recettoriale di questi derivati biciclici per il sottotipo hA<sub>2A</sub>.

Accanto ai derivati a struttura 4-ammino-imidazo[1,2-a]pirazinica riportati in **Tabella 10**, è stato sintetizzato e testato biologicamente anche l'8-oxo derivato **82** (**Fig. 52**) per analogia con gli A<sub>3</sub> antagonisti biciclici e triciclici.

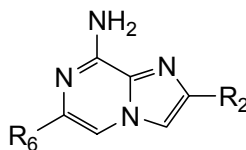


**Figura 52**

Purtroppo, questo composto, nonostante le strette analogie strutturali con i leads biciclici (**PP**, **Fig. 37**), si è mostrato completamente non affine al recettore hA<sub>3</sub>, ma anche verso gli altri sottotipi. Si è pensato di abbandonare questa linea e di orientarsi verso i derivati 4-ammino-sostituiti, riportati in **Tabella 11**.

#### **Derivati imidazo-pirazinici 38-47 quali antagonisti del recettore hA<sub>2A</sub>**

I dati di binding riguardanti i composti **38-47**, recanti in posizione 6 un gruppo arilico o eteroarilico, ed in posizione 2 un gruppo fenilico o furilico, sono riportati in **Tabella 11**.



**Serie D (38-47)**

**Tabella 11**

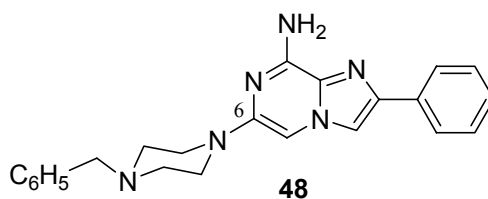
N	R <sub>2</sub>	R <sub>6</sub>	hA <sub>3</sub> (CHO cells)	hA <sub>2A</sub> (CHO cells)	hA <sub>2B</sub> AMPC assay	hA <sub>1</sub> (CHO cells)
<b>23</b>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	Br	14%	18%	40%	<b>420±40</b>
<b>25</b>	2-furil	Br	28%	<b>265±21</b>	29%	<b>210±18</b>
<b>38</b>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	23%	<b>310±26</b>	36%	<b>180±15</b>
<b>39</b>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	4-ClC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	1%	1%	2%	3%
<b>40</b>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	3-CH <sub>3</sub> OC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	21%	24%	30%	37%
<b>41</b>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	4-CH <sub>3</sub> OC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	20%	23%	16%	20%
<b>42</b>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	4-(OCH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> )C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	1%	1%	4%	10%
<b>43</b>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	3-(NHCOCH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> )C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	8%	33%	7%	37%
<b>44</b>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	3-COOHC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	1%	9%	3%	7%
<b>45</b>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	2-furil	20%	38%	13%	28%
<b>46</b>	2-furil	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	21%	<b>520±46</b>	10%	<b>143±11</b>
<b>47</b>	2-furil	2-furil	38%	<b>854±82</b>	30%	<b>316±28</b>

Questi composti sono stati progettati sulla base delle SAR di analoghi derivati biciclici riportati in letteratura<sup>[99]</sup>, e sintetizzati allo scopo di ottenere prodotti attivi e selettivi sul recettore hA<sub>2A</sub>.

I risultati fino ad ora ottenuti indicano che il derivato **38** presenta un'affinità nanomolare sul recettore hA<sub>2A</sub>, ma anche sul sottotipo hA<sub>1</sub>. Questo risultato può comunque dirsi soddisfacente in quanto antagonisti misti hA<sub>1</sub>/hA<sub>2A</sub> si sono rivelati utili nel trattamento del morbo di Parkinson. Infatti, oltre ad alleviare i deficit motori e la degenerazione neuronale per blocco dei recettori A<sub>2A</sub>, inducono anche un miglioramento delle funzioni cognitive per blocco dei recettori A<sub>1</sub><sup>[77]</sup>.

E' importante notare che la sostituzione del bromo in posizione 6 (derivato **23**) con un gruppo fenilico (composto **38**) comporta un aumento di affinità per il recettore hA<sub>1</sub> e quel che è più importante la comparsa di affinità per il sottotipo hA<sub>2A</sub>. Questo sembrerebbe indicare che la presenza di sostituenti ingombranti in questa posizione, così come indicato dai dati di letteratura, sia importante per una interazione efficace con questo recettore.

L'inattività di tutti gli altri derivati 6-aril- (**39-44**) e 6-eteroaril- (**45**) sostituiti non è facilmente razionalizzabile. Nonostante le diverse caratteristiche elettroniche, lipofile e di ingombro sterico dei sostituenti inseriti sul fenile in posizione 6, l'effetto è stato drammaticamente deleterio per il legame a tutti i recettori dell'adenosina. Inoltre, tutti i sostituenti presi in considerazione in questo studio sono stati scelti per gli effetti positivi mostrati in altre serie di derivati biciclici nei confronti dell'affinità sul recettore hA<sub>2A</sub>. L'ipotesi avanzata è che, in questa serie, per ottenere antagonisti potenti e selettivi per il recettore hA<sub>2A</sub>, sia essenziale la presenza del gruppo 2-furilico<sup>[104]</sup>. Questa ipotesi sembra supportata dai dati biologici dei 2-furil-derivati **46** e **47**, che confermano il risultato preliminare del composto 6-bromo-2-furil-sostituito **25**. L'effetto positivo del furano in posizione 2 è facilmente deducibile se si fanno le seguenti considerazioni: mentre la sostituzione del fenile in 6 di **38** con un gruppo furilico conduce al composto **45** che si rivela totalmente inattivo sul recettore hA<sub>2A</sub>, la medesima modifica apportata al derivato 2-furilico **46** porta a **47**, che mantiene la stessa affinità per il recettore hA<sub>2A</sub>. L'introduzione in posizione 6 di un gruppo arilalchilamminico ad elevato ingombro sterico, flessibile e opportunamente distanziato dal sistema biciclico, e la contemporanea presenza del gruppo amminico libero in 8, rappresentano i requisiti fondamentali per l'interazione selettiva con il recettore hA<sub>2A</sub><sup>[21,99]</sup>. E' cio' che si è cercato di realizzare progettando e sintetizzando il derivato **48** (**Fig. 53**)



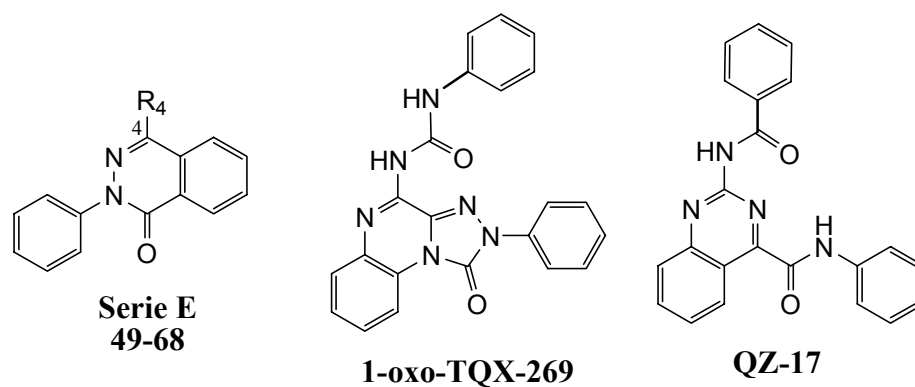
**Figura 53**

Purtroppo, la quantità di prodotto isolato non è stata sufficiente per le prove biologiche, ma l'ottimizzazione del metodo di preparazione è quasi completata. Allo stesso tempo, sono stati progettati altri derivati recanti in posizione 6 gruppi amminici flessibili ed ingombranti, mantenendo in posizione 2 il fenile, oppure introducendo il gruppo 2-furilico.

### **Relazioni struttura-attività dei composti a struttura 2-fenil-1-oxo-ftalazinica 49-68 (Serie E)**

I risultati delle prove di binding dei prodotti sintetizzati (**49-68, Serie E**), sono riportati in **Tabella 12**, assieme a quelli dei composti di riferimento **1-oxo-TQX-269** e **QZ-17**.

L'analisi dei risultati ottenuti, indica che il nucleo 2-fenil-1-oxo-ftalazinico rappresenta un nuovo e promettente scaffold per lo sviluppo di antagonisti potenti e selettivi del recettore  $hA_3$ . In particolare, è importante notare che i composti che portano in posizione 4 una funzione ureidica sostituita con un gruppo metossifenilico o benzilico (**60-62, 66 e 67**) presentano un'affinità nanomolare sul recettore  $hA_3$  ed una elevata selettività. In verità, il corrispondente 4-amino derivato **49** ( $I = 8\%$ ) non aveva dato risultati incoraggianti, in quanto i suoi dati di binding non erano affatto in linea con quelli dei corrispondenti leads di riferimento: il 4-amino-2-fenil-1,2,4-triazolo[4,3-a]chinazolin-1-one (**Serie 1-oxo-TQZ**) ( $hA_3$   $K_i = 490$  nM)<sup>[87]</sup> e la 2-amminochinazoline-4-carbossianilide (**Serie QZ**) ( $hA_3$   $K_i = 350$  nM)<sup>[85]</sup>.



**Tabella 12**

N	R <sub>4</sub>	hA <sub>3</sub> (CHO cells)	hA <sub>1</sub> (CHO cells)	hA <sub>2A</sub> (CHO cells)
<b>49</b>	NH <sub>2</sub>	8%	24%	45%
<b>50</b>	NHCOCH <sub>3</sub>	0%	52%	14%
<b>51</b>	N(COCH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	0%	47%	10%
<b>52</b>	NHCOC <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	<b>1100 ± 100</b>	44%	35%
<b>53</b>	NHCOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -4Cl	17%	26%	17%
<b>54</b>	NHCOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -4OCH <sub>3</sub>	10%	0%	17%
<b>55</b>	NHCO(2-furil)	8%	23%	41%
<b>56</b>	NHCOCH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	28%	23%	4%
<b>57</b>	NHCONHC <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	<b>178.4 ± 17</b>	44%	42%
<b>58</b>	NHCONHC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -4Cl	13%	10%	9%
<b>59</b>	NHCONHC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -2Cl	49%	0%	3%
<b>60</b>	NHCONHC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -4OCH <sub>3</sub>	<b>60.6 ± 6.2</b>	4%	51%
<b>61</b>	NHCONHC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -3OCH <sub>3</sub>	<b>9.75 ± 0.25</b>	45%	28%
<b>62</b>	NHCONHC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -2OCH <sub>3</sub>	<b>8.9 ± 1</b>	0%	17%
<b>63</b>	NHCONHC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -4CH <sub>3</sub>	45%	29%	0%
<b>64</b>	NHCONHC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -2CH <sub>3</sub>	22%	20%	28%
<b>65</b>	NHCONHC <sub>6</sub> H <sub>3</sub> -2,4OCH <sub>3</sub>	33%	29%	33%
<b>66</b>	NHCONHC <sub>6</sub> H <sub>3</sub> -2,5OCH <sub>3</sub>	<b>0.776 ± 0.037</b>	0%	19%
<b>67</b>	NHCONHCH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	<b>29.6 ± 3</b>	20%	23%
<b>68</b>	NHCONHCH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -2OCH <sub>3</sub>	<b>274.2 ± 26</b>	28%	28%
<b>1-oxo-TQX-269</b>	-	276 ± 21	50.8 ± 4.2	2300 ± 291
<b>QZ-17</b>	-	182 ± 10	7%	10%

Nonostante questo dato scoraggiante e sulla base delle SAR di altri antagonisti hA<sub>3</sub> appartenenti alle **Serie 1-oxo-TQX** e **QZ**, sono stati sintetizzati composti 4-ammido- (**50-56**) e 4-ureido-sostituiti (**57-68**).



Tutti i derivati 4-ammido-sostituiti (**50**, **51**, **53-56**), si sono rivelati inattivi sui quattro sottotipi recettoriali, ad eccezione del composto **52** che possiede un valore di  $K_i$  di 1100 nM sul recettore  $hA_3$ . Un netto miglioramento nell'attività si ha con la sostituzione della funzione ammidica con un gruppo ureidico. Infatti il derivato fenilureidico **57** ( $hA_3$ ,  $K_i = 176$  nM) è circa 6 volte più potente del corrispondente analogo 4-fenilammidico **52**. Questo dato non deve stupire, in quanto dati di letteratura mostrano che l'introduzione di un secondo gruppo NH è capace di formare un nuovo legame a idrogeno e quindi di rafforzare l'interazione fra l'antagonista ed il recettore  $hA_3$ .

Il passo successivo è stato quello di introdurre sul gruppo 4-fenilureidico del composto **57**, sostituenti con diverse caratteristiche lipofile ed elettroniche in posizione *orto*, *meta* e *para*. L'inserimento di un atomo di cloro in *para* (**58**) produce una perdita totale dell'affinità  $A_3$ , mentre la stessa sostituzione in *orto* (**59**) comporta una drammatica riduzione ( $I = 49\%$ ). Più o meno lo stesso effetto è osservabile quando si introduce un gruppo metilico sia in posizione *para* (**63**) che *orto* (**64**) del gruppo 4-fenilureidico di **57**.

Invece inserendo un gruppo elettron-donatore, come il gruppo metossilico, si osserva un notevole incremento di affinità e selettività: infatti il composto *para*-metossi sostituito **60** possiede un valore di  $K_i = 60.6$  nM, mentre i derivati sostituiti in *meta* (**61**) e in *orto* (**62**), hanno valori rispettivamente di 9.75 e 8.9 nM. I composti **61** e **62** rappresentano due degli antagonisti più potenti e selettivi del recettore  $hA_3$  appartenenti a questa serie. Visto l'effetto positivo prodotto dall'introduzione di un sostituyente metossilico sul gruppo fenilureidico in posizione 4, è stata valutata l'ipotesi di inserirne un secondo, e sono stati così sintetizzati i composti **65** (2,4-dimetossi) e **66** (2,5-dimetossi). Dai dati riportati in **Tabella 12** si può notare come la seconda sostituzione in posizione 5 del gruppo fenilico di **62**, contribuisca positivamente all'affinità recettoriale: infatti il derivato **66** è più affine per il recettore di circa 11 volte rispetto al derivato 2-metossi sostituito **62**. E' da notare che il composto (2,5-dimetossifenilureido)-sostituito (**66**) è l'antagonista  $hA_3$  più potente e selettivo di questa serie con un valore di  $K_i = 0.776$  nM. Inaspettatamente l'analogo 2,4-dimetossi sostituito **65** non mostra affinità verso questo sottotipo recettoriale. Infine il sostituyente metossilico è stato inserito in posizione *orto* sul gruppo 4-benzil-ureidico a dare il derivato **68**, che è meno affine sul recettore  $hA_3$  di circa 9 volte rispetto al riferimento **67** ( $K_i = 29.6$  nM).

I composti **60-62**, **66** e **67**, che possiedono la più alta affinità per il recettore  $hA_3$  e selettività verso i recettori  $hA_1$  e  $hA_{2A}$ , sono stati testati anche in saggi di tipo funzionale

sul recettore hA<sub>2B</sub> e hA<sub>3</sub> (**Tabella 13**), per valutare anche la selettività verso il recettore hA<sub>2B</sub>.

**Tabella 13.** Studi funzionali sui recettori hA<sub>2B</sub> ed hA<sub>3</sub>.

n°	cAMP assays IC <sub>50</sub> (nM) or I%	
	hA <sub>2B</sub>	hA <sub>3</sub>
<b>60</b>	0%	28 ± 3
<b>61</b>	57%	18 ± 2
<b>62</b>	16%	17 ± 1.6
<b>66</b>	0%	8.25 ± 0.6
<b>67</b>	34%	1.15 ± 0.02

I dati riportati in **Tabella 13** mostrano come questi composti sono inefficaci nell'inibire i livelli di AMPc indotti da NECA in cellule CHO contenenti il recettore hA<sub>2B</sub>. Ciò conferma la loro selettività per il recettore hA<sub>3</sub>. Inoltre per valutare la loro potenza come antagonisti hA<sub>3</sub> è stata misurata la loro capacità di limitare l'inibizione indotta da NECA sull'accumulo di AMPc in cellule CHO contenenti recettori A<sub>3</sub>. Coerentemente con la loro elevata affinità verso il recettore hA<sub>3</sub>, tutti i derivati saggiati hanno mostrato di essere molto potenti e di possedere un comportamento da antagonisti. Questa è un'ulteriore prova che i derivati ftalazinici agiscono come antagonisti potenti e selettivi sul recettore hA<sub>3</sub>.

**Studi di modellazione molecolare:** Poiché i nuovi derivati a struttura 1-oxo-2-fenil-ftalazinica sono stati concepiti come analoghi di semplificazione molecolare delle 1-oxo-1,2,4-triazolo[4,3-a]chinossaline (**1-oxo-TQX**)<sup>[85-92]</sup>, si è pensato di effettuare studi di docking su tutti i composti della **Serie E (49-68)** e sul lead **1-oxo-TQX-269**. Analoghi studi di simulazione sono stati condotti anche sul derivato **QZ-17**, appartenente alle serie degli analoghi biciclici a struttura chinazolinica<sup>[105]</sup>. Questi studi sono stati effettuati per spiegare le SAR ed il profilo di selettività dei nuovi derivati 1-oxo-2-fenilftalazinici e confrontarli con i composti precedentemente studiati delle **Serie 1-oxo-TQX** e **QZ**. Abbiamo quindi effettuato uno studio di modellazione molecolare basato su un modello di recettore hA<sub>3</sub> da noi costruito e derivato dalla struttura cristallografica del recettore hA<sub>2A</sub><sup>[4,111]</sup>. La struttura cristallografica del recettore hA<sub>2A</sub> è stata pubblicata recentemente, in complesso con l'antagonista hA<sub>2A</sub> selettivo

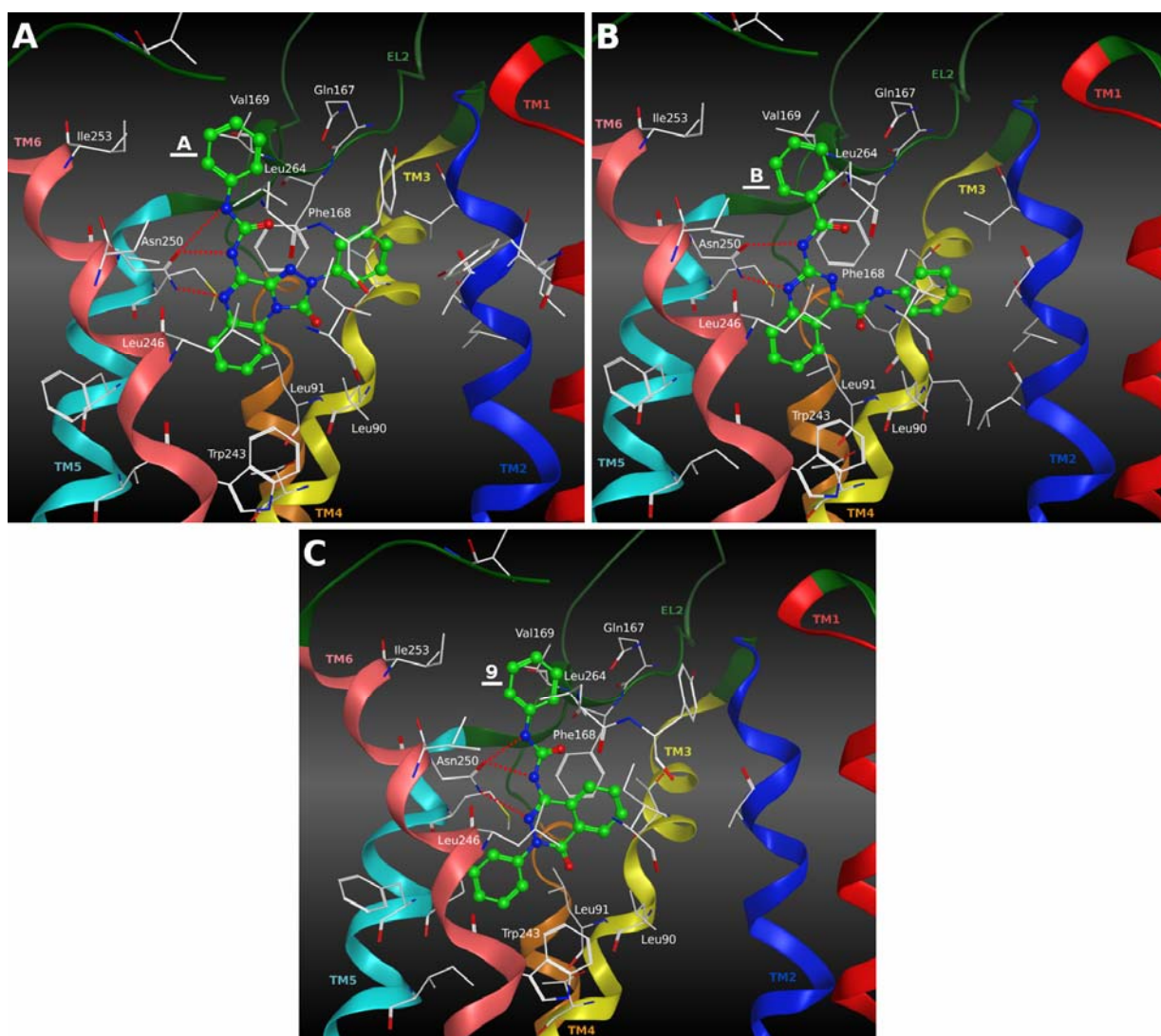
**ZM241385 (Fig. 28)** e ha permesso di sviluppare modelli per omologia per altri recettori accoppiati a proteine G, ed in particolare per i recettori dell'adenosina.

Quindi, tutti i composti considerati nello studio sono stati inseriti nel modello tridimensionale del sito di binding del recettore hA<sub>3</sub> ottenuto per omologia, allo scopo di identificare i diversi modi di legarsi, e di analizzare similitudini e differenze fra le diverse serie. Inoltre, sono stati effettuati anche studi di docking al recettore hA<sub>2A</sub>, per spiegare l'elevata selettività di questi composti verso il sottotipo hA<sub>3</sub>. Ed ancora, per analizzare da un punto di vista quantitativo il meccanismo di riconoscimento ligande-recettore, sono stati calcolati i singoli contributi di interazione elettrostatiche ( $\Delta^{\text{el}}_{\text{int}}$ ) ed idrofobiche ( $\Delta^{\text{hydr}}_{\text{int}}$ ) di ogni residuo amminoacidico alla energia di interazione totale, valutati per tutte le fasi di binding selezionate.

I risultati degli studi di docking indicano che tutti i derivati analizzati (**49-68**, **1-oxo-TQX-269** e **QZ-17**) si legano alla stessa regione transmembrana (TM) del recettore hA<sub>3</sub>. Infatti in questo sottotipo recettoriale, il sito di riconoscimento dei ligandi si trova nella porzione superiore, circondato dai segmenti transmembrana (TMs) 3, 5, 6, 7, come mostrato nella **Figura 54, pannello A**, che riporta il modello ipotetico di legame del derivato **1-oxo-TQX-269** (hA<sub>3</sub>, K<sub>i</sub> = 276nM).

Questo composto è ancorato, nella tasca recettoriale, attraverso tre legami a idrogeno con la catena laterale di Asn250 (6.55), che coinvolgono l'atomo N-5 del nucleo 1-oxo-TQX e i due gruppi NH della funzione ureidica in posizione 4. Studi di mutagenesi<sup>[110,111]</sup> hanno dimostrato che il residuo di Asp 6.55, conservato in tutti i sottotipi recettoriali, è importante per l'interazione dei ligandi con i recettori hA<sub>3</sub> e hA<sub>2A</sub>. Il composto **1-oxo-TQX-269** instaura anche interazioni idrofobiche con i residui amminoacidici della tasca recettoriale fra i quali Ala69 (2.61), Val72 (2.64), Leu90 (3.32), Leu91 (3.33), Phe168 (EL2), Val169 (EL2) Met177 (5.38), Trp243 (6.48), Leu246 (6.51), Ile249 (6.54), Ile253 (6.58), Val259 (EL3), Leu264 (7.35), Tyr265 (7.36), Ile268 (7.39).

In particolare, il sistema tricyclico planare forma forti interazioni con Phe168 (EL2) e con Trp243 (6.48); quest'ultimo amminoacido, altamente conservato, risulta importante sia per l'attivazione recettoriale che per il legame con l'antagonista<sup>[111]</sup>.

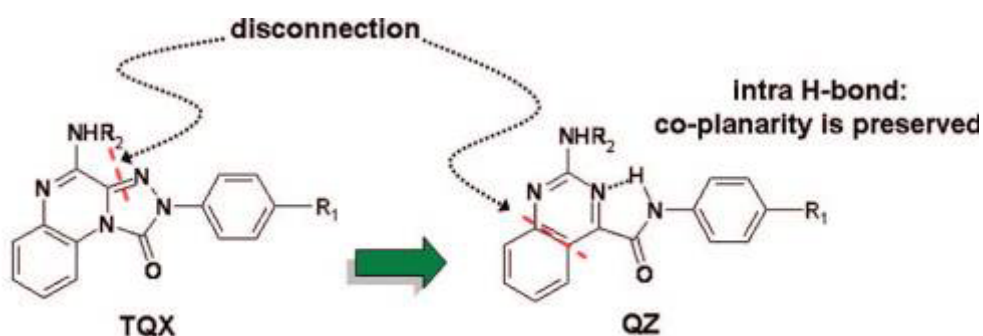


**Figura 54:** Ipotetico modo di binding ottenuto dopo simulazione di docking nel sito di binding del recettore  $hA_3$  di: (A) 1-oxo-TQX-269; (B) QZ-17; (C) composto **57**

Come è mostrato nella **Figura 54, Pannello B**, lo studio di molecular docking nel recettore  $hA_3$  mostra che il composto **QZ-17** ( $hA_3$ ,  $K_i = 182$  nM) si dispone nella tasca recettoriale in modo molto simile al derivato **1-oxo-TQX-269** (Fig. 54, pannello A). Infatti il sito di riconoscimento si trova nella stessa regione TM. In particolare, si può notare come il gruppo fenilico sulla catena 4-carbossiammidica di **QZ-17** sia orientato come il fenile in 2 di **1-oxo-TQX-269**, verso il TM 2; mentre il gruppo 2-benzoilamminico di **QZ-17** sia rivolto verso la regione del loop extracellulare allo stesso modo del sostituito 4-fenilureidico di **1-oxo-TQX-269**.

Dalla **Figura 54, pannello B** si può notare come anche il composto **QZ-17** formi un legame a idrogeno con il residuo Asn250 (6.55) ed una forte interazione idrofobica con

l'amminoacido Phe168 (EL2). Inoltre, in tale composto, si osserva la formazione di un legame a idrogeno fra l'azoto in posizione 3 del sistema chinazolinico e l'NH della funzione 4-ammidica. Tale legame a idrogeno intramolecolare, conduce alla stabilizzazione di un conformero che simula un tricyclo planare con proprietà steriche simili all'analogo **1-oxo-TQX-269** (Fig. 55) Il derivato **QZ-17**, assume una conformazione planare che, sembra aumentare la complementarietà con il recettore  $hA_3$ <sup>[105]</sup>.



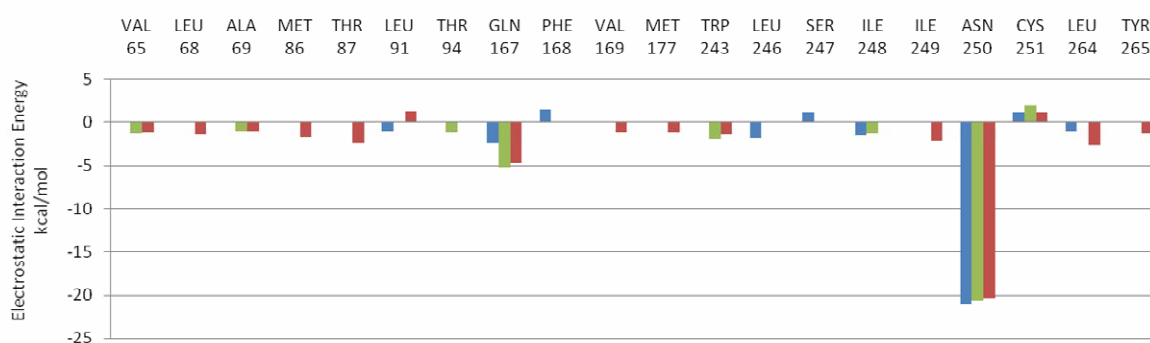
**Figura 55**

L'ipotetico modo di interazione del composto **57** con il recettore  $hA_3$  (serie F,  $hA_3$ ,  $K_i = 178.4$  nM) è riportato in **Figura 54, pannello C**. La simulazione di docking mostra che questo derivato mantiene tutte le interazioni cruciali già viste per **1-oxo-TQX-269** e **QZ-17**, mostra una simile posa di binding ed orienta il sostituito 4-fenilureidico verso la regione del loop extracellulare. Questo ligande forma tre interazioni di legame a idrogeno con la catena laterale di Asn250 (6.55), che coinvolgono l'atomo N-3 del nucleo ftalazinico e i due gruppi NH della funzione ureidica; inoltre, il nucleo ftalazinico forma un'interazione idrofobica con il residuo Phe168 (EL2). Altre interazioni idrofobiche riguardano differenti residui della tasca recettoriale, fra cui Ala69 (2.61), Leu90 (3.32), Leu91 (3.33), Val169 (EL2), Met177 (5.38), Phe182 (5.43), Ile186 (5.47), Trp243 (6.48), Leu246 (6.51), Ile249 (6.54), Ile253 (6.58), Val259 (EL3), Leu264 (7.35), Ile268 (7.39). La posa di binding del composto **57** evidenziata dallo studio di molecular docking, riflette più o meno il modo di interazione di tutti gli altri derivati ftalazinici (**49-69**).

Per concludere, nelle **Figure 57 e 57** sono riportati i contributi delle interazioni elettrostatiche e idrofobiche che si instaurano fra tra i composti **57**, **1-oxo-TQX-269**,

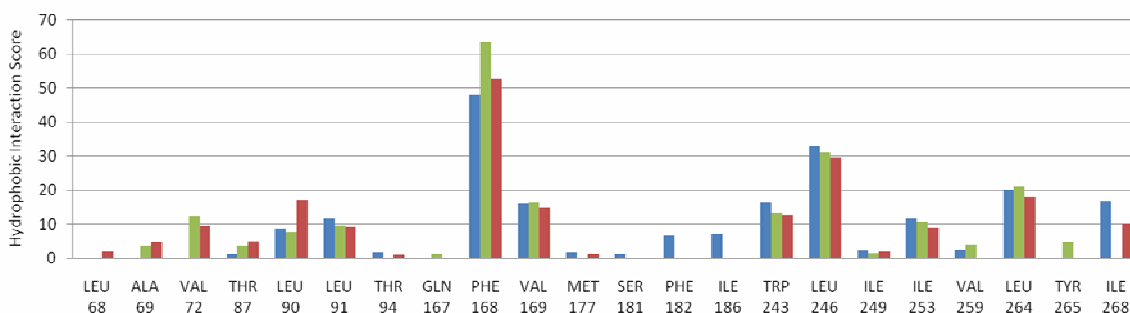
**QZ-17** ed i singoli amminoacidi coinvolti nel riconoscimento del ligande. Il calcolo viene effettuato considerando la posa di binding all'interno del recettore hA<sub>3</sub>, mostrata in **Figura 54**. L'analisi dei dati conferma che i derivati ftalazinici ed i composti di riferimento **1-oxo-TQX-269** e **QZ-17** si legano al sito di binding del recettore hA<sub>3</sub> in modo analogo.

Come mostrato in **Figura 56**, dal punto di vista elettrostatico, il residuo più critico e importante per l'affinità A<sub>3</sub> sembra essere l'Asn250 (6.55), che è responsabile di interazioni stabilizzanti di legami a idrogeno con tutti e tre i ligandi. Questo è supportato dal contributo elettrostatico dell'Asn250 di circa -20 kcal/mol alla energia di interazione globale dei tre complessi ligande-recettore.



**Figura 56:** Energia di interazione elettrostatica fra i composti **57** (Blu), **1-oxo-TQX-269** (Verde) e **QZ-17** (Rosso) ed ogni singolo amminoacido coinvolto nel riconoscimento del ligande

Per quanto riguarda le interazioni idrofobiche (**Fig. 57**) si nota che il contributo più critico è dovuto al residuo Phe168 (EL2), altamente conservato in tutti i recettori dell'adenosina, che interagisce con il nucleo triciclico o biciclico dei ligandi. Lo scaffold è coinvolto in altri legami idrofobici che coinvolgono amminoacidi quali, Leu90 (3.32), Leu91 (3.33), Trp243 (6.48), Leu246 (6.51) ed Ile268 (7.39), mentre l'anello fenilico presente sul sostituito ammidico o ureidico interagisce con Val169 (EL2), Ile253 (6.58) and Leu264 (7.35).

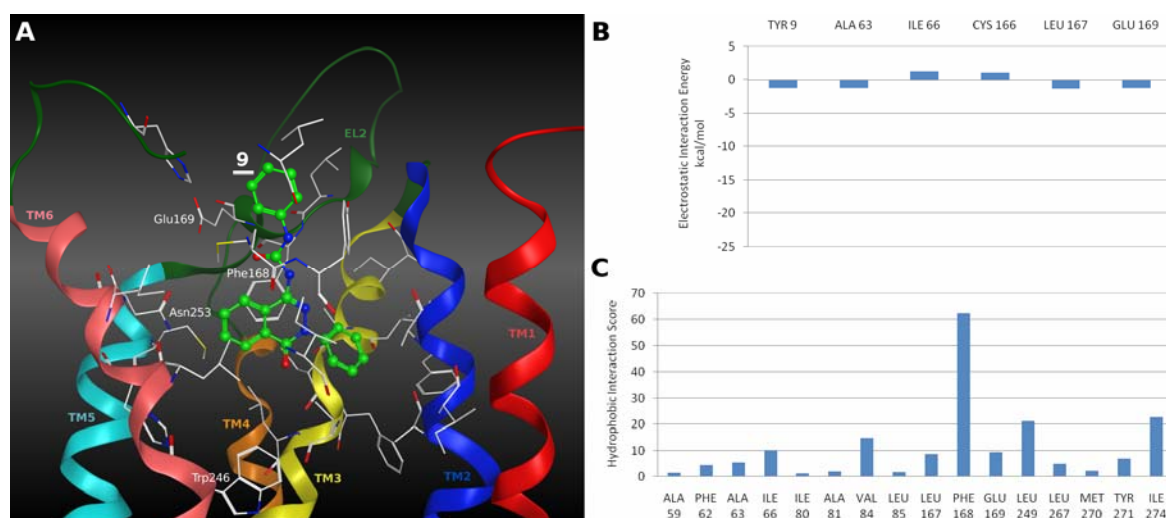


**Figura 57:** Energia di interazione idrofobica fra i composti **57** (Blu), **1-oxo-TQX-269** (Verde) e **QZ-17** (Rosso) ed ogni singolo amminoacido coinvolto nel riconoscimento del ligande

Alcuni aspetti delle SAR emerse per questa serie di composti (**Serie E**) non sono molto facili da razionalizzare. Alcuni sostituenti come i gruppi fenil- e benzil-ammidici, che nelle **Serie 1-oxo-TQX** e **QZ** avevano influenzato positivamente l'affinità per il recettore  $hA_3$ , in questa serie hanno dato risultati scoraggianti. Il modello qui proposto può spiegare parzialmente perché composti che possiedono un gruppo 4-ureidico hanno la più alta affinità per i recettori  $hA_3$ , rispetto agli analoghi 4-ammido-sostituiti. Infatti, nei derivati 4-ureidici, la formazione di un legame a idrogeno addizionale con il gruppo carbonilico dell'Asn250 (6.55) potrebbe incrementare l'affinità per questo sottotipo recettoriale. Per quanto riguarda invece il sostituito sulla funzione fenil-ureidica, sembrerebbero cruciali per l'affinità  $hA_3$ , non solo la posizione, ma anche le caratteristiche elettroniche. Dal modello proposto risulta chiaro che il sostituito è localizzato vicino alla regione del loop extracellulare e che interagisce con i residui appartenenti a EL2 e EL3. A causa della elevata plasticità e della difficile caratterizzazione della regione del loop, è difficile predire accuratamente le interazioni che possono formarsi con la parte del ligande che porta il fenile sostituito, e quindi spiegare gli effetti osservati con i diversi sostituenti. Gli amminoacidi probabilmente coinvolti nell'interazione con l'anello fenilico sostituito sono Gln167 (EL2), Val169 (EL2) Met174 (5.35), Ile253 (6.58), Val259 (EL3), Leu264 (7.35).

La valutazione dei contributi elettrostatici ed idrofobici di ogni amminoacido alla energia di interazione totale, viene effettuato sulla base di docking dei composti **59**, **62** e **64** al recettore  $hA_3$  per individuare possibili differenze. Come atteso, non si è osservato nessuna differenza sostanziale e nessuna novità circa il ruolo di questi sostituenti (**Fig. 56 e 57**). Ulteriori studi sono in corso nel nostro laboratorio per meglio definire la

conformazione dei loops extracellulari che potrebbe essere responsabile delle interazioni con i sostituenti alla posizione 4 di questi ligandi.



**Figura 58:** (A) Ipotetico modo di binding del composto **57** nel sito di binding hA<sub>2A</sub>; (B) Energia di interazione elettrostatica fra il composto **57** ed ogni singolo amminoacido coinvolto nel riconoscimento del ligande; (C) Energia di interazione idrofobica fra il composto **57** ed ogni singolo amminoacido coinvolto nel riconoscimento del ligande

Per quanto riguarda il recettore hA<sub>2A</sub>, le simulazioni di docking effettuate sui composti, rivelano pose di binding non ottimali per questo sottotipo, come mostrato dalla posa del composto **57** nel recettore hA<sub>2A</sub> (**Fig. 58, pannello A**). Infatti, il composto **57** risulta ruotato di 180° rispetto alla posa all'interno del recettore hA<sub>3</sub>, probabilmente a causa sia della presenza di un residuo di Glu169, che dell'ingombro sterico del sostituito presente in posizione 4 sul fenile ureidico. Come conseguenza di questa orientazione, il composto **57** non è capace di interagire in modo efficace con il residuo di Asn253 (6.55) e Glu169 (EL2) attraverso la formazione di legami a idrogeno, come messo in evidenza dalla posa di binding dello **ZM241385** nel recettore hA<sub>2A</sub><sup>[108]</sup> ed evidenziato in molti altri composti dotati di attività antagonista al recettore hA<sub>2A</sub><sup>[109]</sup>. Quindi, l'analisi dei contributi elettrostatici ed idrofobici per il composto **57** all'interno del recettore hA<sub>2A</sub> (**Fig. 58, pannelli B e C**) evidenziano la mancanza di interazioni elettrostatiche con i residui amminoacidici del sito di binding e la presenza delle sole interazioni idrofobiche, anche se forti, una delle quali con la Phe168. Questo risultato può spiegare



la bassa o nulla affinità al recettore hA<sub>2A</sub> di tutti i derivati ftalazinici (**49-68**) qui studiati.

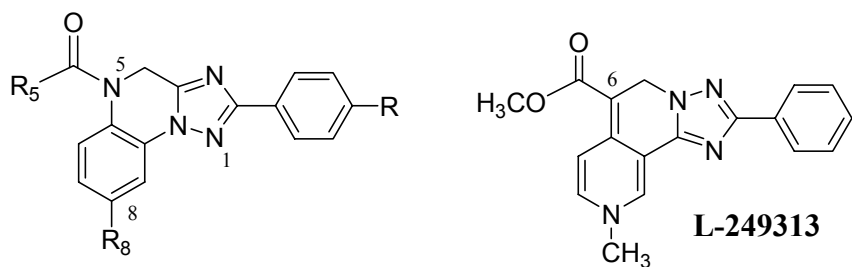
In conclusione, gli studi di docking al recettore hA<sub>3</sub> hanno messo in evidenza che i derivati 1-oxo-ftalazinici hanno un modo di binding molto simile ai composti di riferimento **1-oxo-TQX-269** e **QZ-17**, come atteso sulla base dell'approccio di semplificazione molecolare. Queste tre classi di A<sub>3</sub> antagonisti hanno mostrato di instaurare analoghe interazioni con la cavità recettoriale, come confermato dall'analisi dei contributi elettrostatici ed idrofobici alla energia di interazione totale.

Ulteriori studi sono in corso nel nostro laboratorio per chiarire meglio i requisiti strutturali importanti per una interazione efficace con il recettore hA<sub>3</sub> di questa classe di composti in modo tale da poter sviluppare altri derivati ftalazinici con una maggiore affinità e selettività per il recettore hA<sub>3</sub>.

### **Relazioni struttura-attività dei composti 4,5-diidro-1,2,4-triazolo[1,5-a]chinossalinici 69-73 (Serie F) e degli analoghi di semplificazione molecolare 74-77 (Serie G) e 78-81 (Serie H)**

I risultati delle prove di binding dei composti a struttura triazolo-chinossalinica (**Serie F**), considerati in questi studi, sono riportati in **Tabella 14**, assieme agli analoghi di riferimento **TQX475** e **TQX353** ed al lead **L249313**. I dati relativi ai derivati di semplificazione molecolare (**Serie G e F**) sono riportati nelle **Tabelle 15 e 16**.

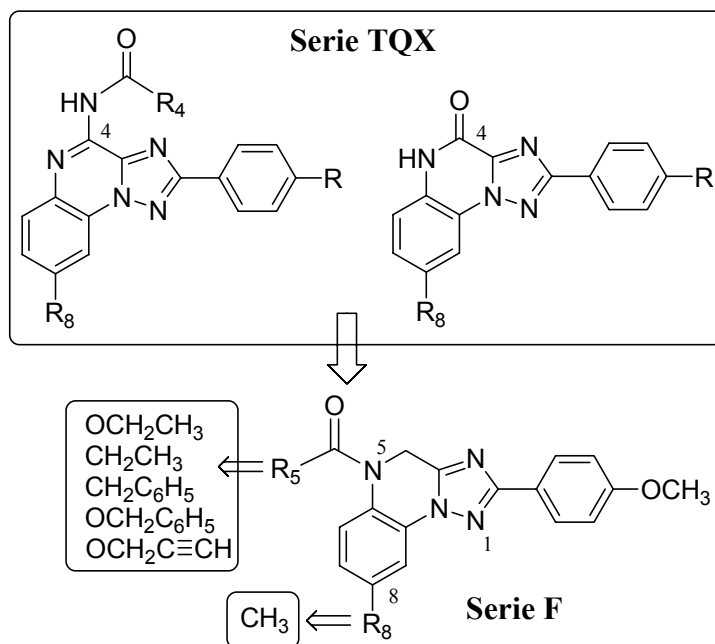
Il binding sui recettori A<sub>1</sub> e A<sub>2A</sub> è stato effettuato a tappeto sul bovino (b), mentre il binding sul recettore A<sub>3</sub> è valutato sull'umano (h). Alcuni composti particolarmente affini per il recettore hA<sub>3</sub> sono stati selezionati e testati anche sui recettori hA<sub>2A</sub> e hA<sub>1</sub>. E' comunque importante ricordare che esiste una stretta omologia di sequenza fra i recettori bovini e quelli umani, per cui i dati di binding sono spesso sovrapponibili.



**Tabella 14**

N	R	R <sub>5</sub>	R <sub>8</sub>	bA <sub>1</sub> Ki (nM) o I% a 20 µM	bA <sub>2A</sub> Ki (nM) o I% a 20 µM	hA <sub>3</sub> (CHO cells)	hA <sub>1</sub> (CHO cells)	hA <sub>2A</sub> (CHO cells)
69	OCH <sub>3</sub>	OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>3</sub>	<b>2487±142</b>	29%	<b>39.4±3</b>	<b>86±8</b>	2%
70	OCH <sub>3</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>3</sub>	<b>1286±92</b>	41%	<b>25.1±2</b>	<b>1543±61</b>	6%
71	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>3</sub>	22%	20%	<b>231.4±18</b>	-	-
72	OCH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>3</sub>	47%	52%	<b>54.85±5</b>	39%	0%
73	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>2</sub> C≡CH	CH <sub>3</sub>	<b>1875±185</b>	8%	<b>23.3±1.8</b>	49%	13%
TQX475	H	OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	<b>200±18</b>	0%	<b>22±2.0</b>	-	-
TQX353	H	OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>3</sub>	<b>285±51</b>	6100	<b>12.5±0.8</b>	<b>556±145</b>	9%
L249313	-	-	-			<b>13±5.6</b>	4000	>10000

Il composto **TQX353** rappresenta il lead di questa serie ed appartiene ad un primo set di composti precedentemente sintetizzati, lo studio dei quali ha permesso di avanzare alcune SAR.



**Figura 59**

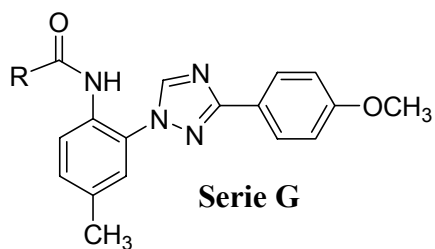
In particolare, è risultato evidente che l'eliminazione del gruppo NH amidico (sia endo- che eso-nucleare) degli analoghi **TQX** e l'introduzione di gruppi carbonilici o carbossilici all'N in posizione 5, conduce a composti affini per il recettore hA<sub>3</sub> (**Fig. 59**).

Negli studi precedenti era stato valutato l'effetto sull'attività di binding dell'introduzione di sostituenti in posizione 8 sul benzofuso. Sia l'introduzione del cloro che quella del CH<sub>3</sub> (in analogia al lead **L249313**) conduce ad un aumento dell'affinità sul recettore hA<sub>3</sub>, così come evidenziato dalla maggiore affinità di **TQX353** rispetto a quella di **TQX475**, totalmente inattivo sul recettore hA<sub>3</sub> (**Tab. 14**). E' per questo motivo che si è scelto di mantenere fisso il gruppo CH<sub>3</sub> in posizione 8, andando invece a variare il sostituito in posizione 5. Ulteriore modifica ai composti precedentemente studiati è stata l'introduzione del gruppo metossilico in posizione *para* sul fenile in 2, in analogia ad altri derivati triciclici, al fine di aumentare affinità e selettività A<sub>3</sub>. Tale modifica però, non ha avuto effetto positivo in quanto ha ridotto l'affinità per il recettore hA<sub>3</sub> di circa 3 volte (**TQX535**: K<sub>i</sub> = 12.5 nM; **69**: K<sub>i</sub> = 39.4±4 nM). Si osserva invece un aumento dell'affinità per il recettore hA<sub>1</sub> (**Tab 14**).

Invece, l'introduzione di sostituenti diversi in posizione 5 conduce a composti affini per il recettore hA<sub>3</sub> e sicuramente più selettivi. Infatti, i derivati **72** e **73**, recanti rispettivamente in posizione 5 un gruppo benzilico e un gruppo 2-carbossi-propinilico, sono completamente non affini per i recettori hA<sub>1</sub> e hA<sub>2A</sub> (**Tab 14**). Questi dati lasciano quindi aperta la strada per lo sviluppo a questa serie di derivati triciclici quali antagonisti dei recettori dall'adenosina.

Dati poco soddisfacenti (**Tab. 15**) sono stati ottenuti, invece, sui derivati triazolici **74-77** (**Serie G**) ottenuti attraverso un'apertura formale del nucleo triazolo-chinazolinico a livello della posizione 4, eliminando il ponte etilenico.

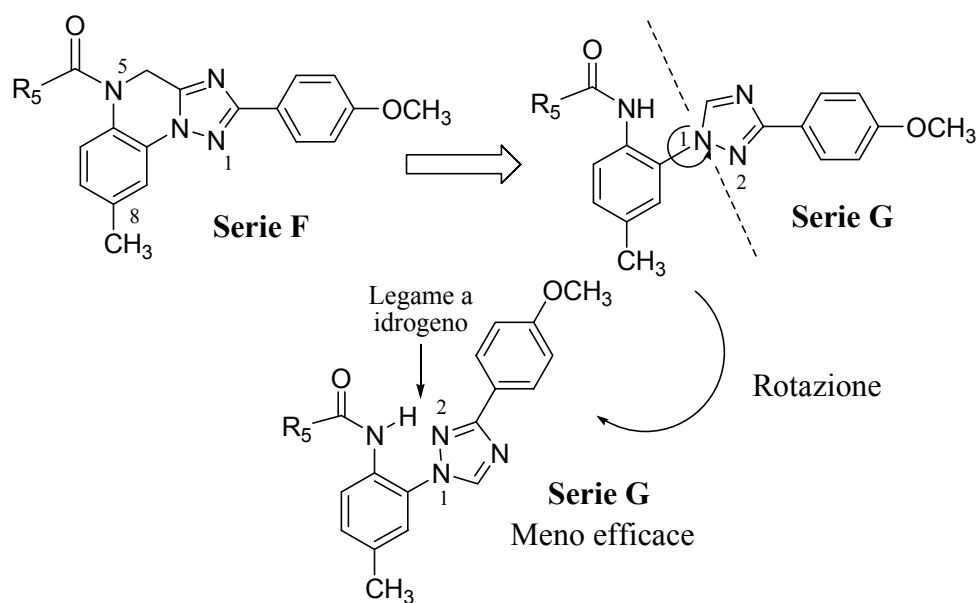
Tali composti sono totalmente non affini per alcuno dei tre sottotipi recettoriali studiati. Ciò indica che la semplificazione molecolare realizzata sul sistema triciclico **TQX** è stata deleteria per l'affinità.



**Tabella 15**

N	R <sub>5</sub>	bA <sub>1</sub> Ki (nM) o I% a 20 μM	bA <sub>2A</sub> Ki (nM) o I% a 20 μM	hA <sub>3</sub> (CHO cells)	hA <sub>1</sub> (CHO cells)	hA <sub>2A</sub> (CHO cells)
74	OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	28%	19%	34%	-	-
75	OCH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	10%	1%	47%	-	-
76	CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	41%	49%	45%	-	-
77	OCH <sub>2</sub> C≡CH	15%	40%	35%	-	16%

Una prima ipotesi è che il sistema triazolico si arrangi in una struttura pseudo-triciclica a causa della formazione di un legame a idrogeno intramolecolare fra il gruppo NH in posizione *orto* sul fenile in 1 e l'atomo di N in 2 del nucleo triazolico. (**Fig. 60**)

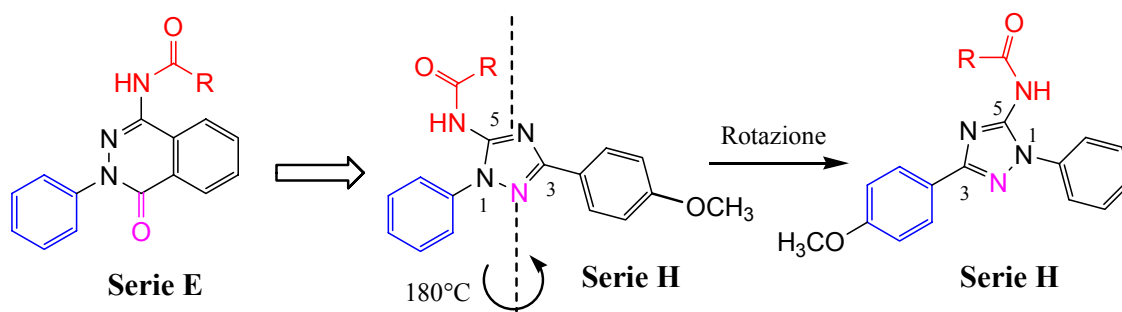


**Figura 60**

In questo modo la struttura tricyclica del sistema **TQX** e monociclica della **Serie G** non sono più sovrapponibili, perdendo così la complementarità con il sito di binding. Studi

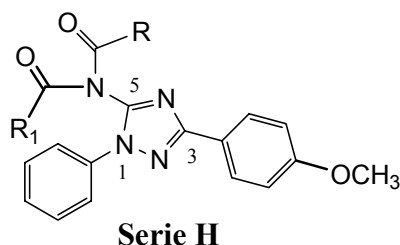
di docking sono in corso per chiarire le modalità di interazione di questi composti (triciclici e di semplificazione) con il sito di binding.

Contemporaneamente sono stati disegnati anche i derivati triazolici della **Serie H** (**78-81**) che, più che rappresentare analoghi dei composti della **Serie G**, possono essere considerati come derivanti dalla semplificazione molecolare dei derivati 1-oxo-ftalazin-4-amminici della **Serie F**: le analogie strutturali sono messe in evidenza in **Figura 61**.



**Figura 61:** Analogie strutturali fra la Serie F e gli analoghi di semplificazione Serie H

I dati preliminari riportati in **Tabella 16** sembrano comunque promettenti ed in linea con quelli della serie 1-oxo-ftalazinica.



**Tabella 16**

N	R <sub>1</sub>	R	hA <sub>3</sub> (CHO cells)	hA <sub>1</sub> (CHO cells)	hA <sub>2A</sub> (CHO cells)	hA <sub>2B</sub> AMPc assay
<b>78</b>	COCH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	19%	26%	4%	-
<b>79</b>	COC <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	44%	55%	13%	-
<b>80</b>	H	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	50%	25%	43%	-
<b>81</b>	H	NHC <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	<b>545±48</b>	1%	7%	1%
<b>57</b>	-	-	<b>178.4 ± 17</b>	44%	42%	-

Infatti, mentre i derivati ammidici (**78-80**) sono totalmente inattivi sui sottotipi hA<sub>3</sub>, hA<sub>1</sub> e hA<sub>2A</sub>, il composto 1,2,4-triazol-3-fenil-ureidico (**81**) presenta affinità nell'alto range

nanomolare sul recettore hA<sub>3</sub>, paragonabile con il dato dell'analogo derivato 1-oxo-ftalazinico (**57**). Questo tipico andamento era stato osservato anche per i leads ftalazinici. Questo promettente dato, permette di progettare altri derivati recanti in posizione 3 sul nucleo triazolico differenti catene ureidiche in analogia con i leads.

## Conclusioni

Lo studio realizzato in questo lavoro di tesi può considerarsi soddisfacente, in quanto ha permesso di raggiungere gli obiettivi prefissati.

Innanzitutto abbiamo individuato nuovi scaffolds per l'ottenimento di antagonisti potenti e selettivi sui recettori hA<sub>3</sub>, ma anche hA<sub>2A</sub>.

Inoltre, molti dei nuovi nuclei sintetizzati sono ottenuti da procedimenti di semplificazione molecolare. Composti ottenuti con questa metodica risultano generalmente più solubili nei comuni solventi e potrebbero possedere migliori proprietà farmacocinetiche e più elevata biodisponibilità. Inoltre, sfruttando vie sintetiche più semplici, abbiamo ottenuto di intermedi chiave, funzionalizzabili in diverse posizioni.

Per quanto riguarda i composti a struttura 2-fenil-1-oxo-ftalazinica, gli studi di molecular docking hanno dimostrato che interagiscono con il recettore hA<sub>3</sub> in modo del tutto simile ai composti lead a struttura **1-oxo-TQX** e **QZ**, precedentemente studiati. Infatti, queste tre diverse classi interagiscono efficacemente con gli stessi residui amminoacidici cruciali per il legame al recettore hA<sub>3</sub>, così come confermato dall'analisi dei contributi elettrostatici e idrofobici.

## **5. PARTE SPERIMENTALE**

I punti di fusione sono stati eseguiti con l'apparecchio di Gallenkamp.

Le cromatografie su strato sottile sono state condotte su lastre di gel di silice Keiselgel Merck F<sub>254</sub> e su lastre di ossido di alluminio F<sub>254</sub> neutro.

Le purificazioni sono state effettuate su colonne di gel di silice (Keiselgel 40, 0.063-0.020 mm), Merck, utilizzando gli opportuni eluenti.

Le idrogenazioni eseguite con apparecchio Parr e generatore di idrogeno Parker. Sono state effettuate reazioni al microonde (MW) utilizzando uno strumento Initiator EXP della Biotage.

Gli spettri IR sono stati registrati con uno spettrofotometro Perkin-Elmer RXIFT-IR 1420, utilizzando una pasta nujol per i solidi o un film di prodotto per i liquidi.

Gli spettri <sup>1</sup>H-NMR sono stati eseguiti con uno spettrometro Bruker Avance 400 MHz in soluzione di CDCl<sub>3</sub> o DMSO-d<sub>6</sub>. Il segnale del deuterio è stato usato come segnale del lock del campo. I chemical shifts sono riportati in δ (ppm) rispetto al picco centrale del solvente. Le costanti di accoppiamento (J) sono misurate in Hz.

#### **Abbreviazioni <sup>1</sup>H-NMR**

s = singoletto  
d = doppietto  
dd = doppietto di doppietti  
t = tripletto  
q = quartetto  
m = multipletto  
ar = protoni aromatici  
pip = piperazina  
pir = pirazina  
imi = protone imidazolico  
fur = furano  
br = broad  
alk = protoni alchilici

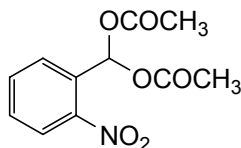
#### **Abbreviazioni solventi**

CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> = diclorometano  
CHCl<sub>3</sub> = cloroformio  
DME = 2,4-dimetossietano  
DMF = dimetilformammide  
MeOH = metanolo  
EtOH = etanolo  
AcOEt = acetato di etile  
CHX = cicloesano  
DMSO = dimetilsolfossido  
Py = piridina  
THF = tetraidrofurano  
Et<sub>2</sub>O = etere etilico  
Et<sub>3</sub>N = trietilammina  
AcOH = acido acetico



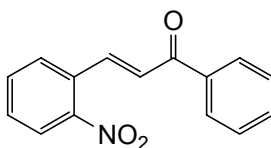
## PIRAZOLO[1,5-c]CHINAZOLINE 1-13 (Serie A)

### 1-Diacetossimetil-2-nitrobenzene (**93**)<sup>[112]</sup>



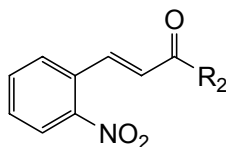
Ad una miscela di anidride acetica (33 ml) e acido ortofosforico (0.34 ml) mantenuta in bagno di ghiaccio, viene aggiunta la 2-nitrobenzaldeide (66 ml). La miscela di reazione è lasciata in agitazione per 2 h ad una temperatura intorno ai 15-20°C. Successivamente H<sub>2</sub>O e ghiaccio (100 gr) vengono aggiunti per favorire la precipitazione del prodotto desiderato e la miscela è lasciata in agitazione per 30'. Il precipitato è filtrato e lavato con H<sub>2</sub>O e Et<sub>2</sub>O. Resa 83%; pf 82-84°C (EtOH) (pf lett 83-85°C)<sup>[112]</sup>.

### 1-Fenil-3-(2-nitrofenil)-2-propen-1-one (**89**)<sup>[113]</sup>



Ad una sospensione del diacetale **93** (40mmol) in EtOH assoluto (62.5 ml) contenente l'acetofenone (40 mmol), viene aggiunta una soluzione di NaOH 20% (20 ml), mantenendo la temperatura al di sotto dei 20°C (bagno di ghiaccio); terminata l'aggiunta, la miscela di reazione è lasciata sotto agitazione per 20'. Il solido presente viene poi filtrato, lavato con H<sub>2</sub>O ed etere di petrolio e purificato attraverso una filtrazione su silice utilizzando acetone. Resa: 50%; pf 119-121°C (EtOH) (pf lett. 121-123°C)<sup>[113]</sup>.

### 1-(Etero)aril-3-(2-nitrofenil)-2-propen-1-one (**100-102**)



Ad una sospensione della 2-nitrobenzaldeide (16 mmol) in AcOH glaciale (8 ml), contenente BF<sub>3</sub>(CH<sub>3</sub>COOH)<sub>2</sub> (48 ml), è aggiunto l'opportuno acetilderivato (16 mmol). La miscela di reazione è lasciata sotto agitazione a r.t. fino a scomparsa del prodotto di

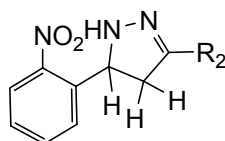
partenza. Quindi si aggiunge una soluzione acquosa satura di  $\text{CH}_3\text{COONa}$  (8 ml) e si porta alla neutralità con  $\text{NaOH}$  soluzione al 20%. Il precipitato che si forma viene lavato con  $\text{H}_2\text{O}$  (10 ml) e purificato.

**100:**  $\text{R}_2 = 4\text{-CH}_3\text{OC}_6\text{H}_4$ . t: 3 giorni; Resa: 78%; pf 112-114°C ( $\text{CHX}/\text{AcOEt}$ );  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3.92 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 7.01 (d, 2H, ar,  $J = 5.00$  Hz), 7.35 (d, 1H, H-2,  $J = 15.64$  Hz), 7.57 (t, 1H, ar,  $J = 7.12$  Hz), 7.70 (t, 1H ar,  $J = 7.12$  Hz), 7.76 (d, 1H, ar,  $J = 6.64$  Hz), 8.05 (d, 2H ar,  $J = 4.96$  Hz), 8.09 (d, 1H, ar,  $J = 6.04$  Hz), 8.15 (s, 1H, 1-H), IR: 1653, 1571, 1353. Anal ( $\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{NO}_4$ ) C, H, N.

**101:**  $\text{R}_2 = 2\text{-furil}$ . t: 3 giorni; Purificato per cromatografia su colonna, eluente  $\text{CHX}/\text{AcOEt}$  (5:5); Resa: 41%; pf 132-135°C ( $\text{EtOH}$ );  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO}$ ) $\delta$ : 6.82-6.84 (m, 1H, ar), 7.69-7.74 (m, 2H, ar), 7.85 (t, 1H, ar,  $J = 7.60$  Hz), 7.89 (d, 1H, ar,  $J = 3.56$  Hz), 7.99 (d, 1H, ar,  $J = 15.61$  Hz), 8.10-8.16 (m, 3H, ar); IR: 1690, 1550, 1330. Anal ( $\text{C}_{13}\text{H}_9\text{NO}_4$ ) C, H, N.

**102:**  $\text{R}_2 = 2\text{-tienil}$ . t: 2 giorni; Resa: 46%; pf 131-134°C ( $\text{EtOH}$ ) (pf lett. 136°C)<sup>[114]</sup>;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO}$ ) $\delta$ : 7.35 (t, 1H, ar,  $J = 4.84$  Hz), 7.72 (t, 1H, ar,  $J = 8.36$  Hz), 7.84-7.90 (m, ar + H-2), 7.99 (d, 1H, ar,  $J = 15.49$  Hz), 8.10-8.14 (m, 2H, ar), 8.20 (d, 1H, ar,  $J = 7.00$  Hz), 8.38 (d, 1H, ar,  $J = 4.76$  Hz), IR: 1690, 1550, 1330. Anal ( $\text{C}_{13}\text{H}_9\text{NO}_3\text{S}$ ) C, H, N.

#### 4,5-Diidro-3-(etero)aril-5-(2-nitrofenil)-pirazoli (91, 104-106)<sup>[115]</sup>



Una soluzione dell'opportuno calcone **89**, **100-102** (6.7 mmol) in  $\text{EtOH}$  (50 ml), contenente idrazina idrata al 65% (18.1 mmol), viene scaldata a riflusso fino a scomparsa del prodotto di partenza.

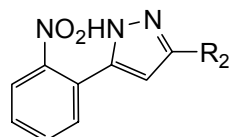
**91:**  $\text{R}_2 = \text{C}_6\text{H}_5$ . t: 1 h; Dopo raffreddamento a temperatura ambiente il solido giallo che precipita viene filtrato e lavato con poco  $\text{EtOH}$  ed  $\text{Et}_2\text{O}$ . Resa: 56%; pf 118-120°C ( $\text{EtOH}$ ) (pf lett. 122-124°C)<sup>[115]</sup>. Anal ( $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_2$ ) C, H, N.

**104:**  $R_2 = 4\text{-CH}_3\text{OC}_6\text{H}_4$ . t: 5 h Il solido che precipita dopo raffreddamento a temperatura ambiente viene filtrato e le acque madri sono evaporate sotto vuoto a dare un solido giallo-arancio. Resa: 88%; pf 72-73°C (CHX);  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 2.94 (q, 1H, H-4), 3.73 (q, 1H, H-4), 3.81 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 5.34 (t, 1H, H-5,  $J = 10.28$  Hz), 6.14 (s, br, 1H, NH), 6.88 (d, 2H, ar,  $J = 8.76$  Hz), 7.41 (t, 1H, ar,  $J = 8.00$  Hz), 7.59 (d, 2H, ar,  $J = 8.88$  Hz), 7.60-7.62 (m, 1H, ar); 7.94 (d, 2H, ar,  $J = 8.24$  Hz); IR: 3353, 1515, 1463, 1341, 1250. Anal ( $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_3$ ) C, H, N.

**105:**  $R_2 = 2\text{-fural}$ . t: 6 h; Il solido che precipita per raffreddamento a temperatura ambiente viene filtrato via e le acque madri sono evaporate a dare un olio rosso mattone. Il prodotto è sufficientemente puro da essere utilizzato come tale per il passaggio successivo. Resa: 71%;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 2.99 (q, 1H, H-4) 3.57 (q, 1H, H-4), 5.42 (t, 1H, H-5,  $J = 10.36$  Hz), 6.04 (s, 1H, NH), 6.48 (q, 1H, ar), 6.58 (d, 1H, ar,  $J = 3.36$  Hz), 7.47 (t, 1H, ar,  $J = 8.44$  Hz), 7.51 (s, 1H, ar), 7.67 (t, 1H, ar,  $J = 8.44$  Hz), 7.95 (d, 1H, ar,  $J = 7.92$  Hz), 8.01 (d, 1H, ar,  $J = 8.17$  Hz); IR: 3300, 1650, 1550, 1340, 1250. Anal ( $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_3$ ) C, H, N.

**106:**  $R_2 = 2\text{-tienil}$ . t: 6 h; Dopo raffreddamento, precipita un solido che viene allontanato per filtrazione. Le acque madri sono evaporate a dare un residuo che, trattato con  $\text{Et}_2\text{O}$ , lascia separare un solido rosso. Resa: 36%; pf 79-81°C ( $\text{Et}_2\text{O}$ );  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO}$ ) $\delta$ : 2.97 (q, 1H, H-4), 3.62 (q, 1H, H-4), 5.18 (sestetto, 1H, H-5), 7.06 (q, 1H, ar), 7.17 (d, 1H, ar,  $J = 4.28$ ), 7.51-7.58 (m, 3H, ar + NH), 7.73-7.81 (m, 2H, ar), 7.99 (d, 1H, ar,  $J = 8.96$  Hz); IR: 3340, 1654, 1540, 1338, 1251. Anal ( $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}$ ) C, H, N.

### 3(5)-(Etero)aril-5(3)-(2-nitrofenil)-pirazoli (83-86)<sup>[115]</sup>



Ad una soluzione dell'opportuna pirazolina **91**, **104-106** (3.74 mmol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  dry (25 ml), viene aggiunta, goccia a goccia nell'arco di 15-30', una soluzione di  $\text{Pb}(\text{OAc})_4$  (3.74 mmol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  dry (25 ml). Successivamente viene addizionata  $\text{H}_2\text{O}$  (70 ml) con formazione di un precipitato che viene allontanato per filtrazione. La fase organica viene lavata con  $\text{H}_2\text{O}$  (3 x 50 ml), anidrificata su  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  ed evaporata sotto vuoto a

dare un olio rosso mattone. Al residuo viene aggiunto EtOH (20 ml) e HCl conc. (0.15 ml) e la miscela è scaldata a riflusso per 30'. La soluzione ottenuta viene trattata con NaHCO<sub>3</sub> 2.5% (20 ml) per tamponare l'acidità e quindi estratta con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50 ml). La fase organica viene nuovamente lavata con H<sub>2</sub>O (3 x 50 ml), anidrificata su Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ed evaporata sotto vuoto. Il prodotto viene poi purificato per aggiunta di una miscela di CHX/AcOEt (1:1) (**77a**) o tramite colonna cromatografia (**77b-d**), utilizzando come eluente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/AcOEt (9:1).

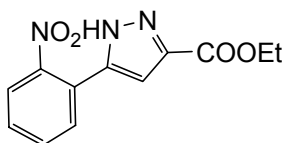
**83:** R<sub>2</sub> = C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>. Resa: 70%; pf 117-119°C (CHX/AcOEt) (pf lett. 122-123°C)<sup>[115]</sup>. Anal (C<sub>15</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>) C, H, N.

**84:** R<sub>2</sub> = 4-CH<sub>3</sub>OC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>. Resa: 60%; pf 148-149°C (CHX/AcOEt); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO)δ: 3.81 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 6.94 (s, 1H, protone pirazolo), 7.06 (d, 2H, ar, J = 8.56 Hz), 7.56 (t, 1H, ar, J = 7.56 Hz), 7.70-7.73 (m, 3H, ar), 7.80-7.86 (m, 2H, ar), 13.48 (s, 1H, NH); IR: 3215, 1511, 1462. Anal (C<sub>16</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>) C, H, N.

**85:** R<sub>2</sub> = 2-furil. Resa: 18%; pf 121-123°C (pf lett. 121°C dec)<sup>[115]</sup>. Anal (C<sub>13</sub>H<sub>9</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>) C, H, N.

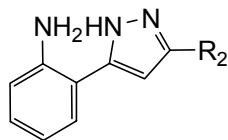
**86:** R<sub>2</sub> = 2-tienil. Resa: 42%, pf 104-106°C (pf lett. 105-106°C)<sup>[115]</sup>. Anal (C<sub>13</sub>H<sub>9</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S) C, H, N.

### 5(3)-(2-Nitrofenil)pirazolo-3(5)-carbossilato di etile (**88**)<sup>[116]</sup>



Una sospensione del β-dichetoestere **108**<sup>[116]</sup> (15 mmol) e di idrazina idrata al 55% in acido acetico al 70% (30 ml), è scaldata a 80°C per 30'. Il solvente viene distillato sotto vuoto. Resa: 95%; pf 116-118°C (CHX) (pf lett. 116-118°C)<sup>[116]</sup>. Anal. (C<sub>12</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) C, H, N.

**5(3)-(2-Amminofenil)-3(5)-(2-(etero)aril)-pirazoli (18-22)**<sup>[115, 116]</sup>



Ad una soluzione dell'opportuno 2-nitropirazolo **83-87** (1.7 mmol) in AcOEt (100 ml), viene aggiunto il 30% in peso di Pd/C al 10%. L'ammiscela è idrogenata nell'apparecchio Parr alla pressione di 30 psi fino a scomparsa del prodotto di partenza (t). Si filtra via il catalizzatore e la soluzione madre è evaporata sotto vuoto, ottenendo un solido cristallino.

**18:** R<sub>2</sub> = C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>. t: 5 h; Resa: 63%; pf 171-173°C (CHX) (pf lett. 172-173°C)<sup>[115]</sup>. Anal. (C<sub>15</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>) C, H, N.

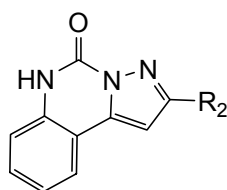
**19:** R<sub>2</sub> = 4-CH<sub>3</sub>OC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>. t: 20 h; Resa: 90%; pf 172-173°C (toluene); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO)δ: 3.81 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 6.35 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 6.59 (t, 1H, ar, J = 7.32 Hz), 6.74 (d, 1H, ar, J = 8.00 Hz), 7.00 (t, 1H, ar, J = 7.68 Hz), 7.05-7.07 (m, 2H, ar + protoni pirazolo), 7.57 (d, 1H, ar, J = 7.60 Hz), 7.76 (d, 2H, ar, J = 8.52 Hz), 13.15 (s, br, 1H, NH); IR: 3363, 3291, 1610, 1459. Anal. (C<sub>16</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O) C, H, N.

**20:** R<sub>2</sub> = 2-furil. t: 5 h; Resa: 90%; pf 127-128°C (benzene) (pf lett. 127-128°C)<sup>[115]</sup>. Anal. (C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>O) C, H, N.

**21:** R<sub>2</sub> = 2-tienil. t: 20 h; Resa: 70%; pf 174-177°C (pf lett. 176-178°C)<sup>[115]</sup>. Anal. (C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>S) C, H, N.

**22:** R<sub>2</sub> = COOEt. t: 8 h; Resa: 90%; pf 129-130°C (CHX/AcOEt) (pf lett. 128-130°C)<sup>[116]</sup>. Anal. (C<sub>12</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>) C, H, N.

**5,6-Diidro-2-(etero)aril-pirazolo[1,5-c]chinazolin-5-oni (1-4, 6)**<sup>[115,116]</sup>



Ad una soluzione dell'opportuno 2-amminofenil-pirazolo **18-22** (1.4 mmol) in THF dry (10 ml), si aggiunge trifosgene (0.56 mmol) e trietilammina (3.36 mmol) e si lascia sotto agitazione a temperatura ambiente fino a scomparsa del prodotto di partenza (t). Successivamente si addiziona H<sub>2</sub>O (30 ml) ottenendo un precipitato che viene filtrato.

**1:** R<sub>2</sub> = C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>. t = 30'; Resa: 98%; pf 279-280°C (AcOH) (pf lett. 280-281°C)<sup>[115]</sup>. Anal. (C<sub>16</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>O) C, H, N.

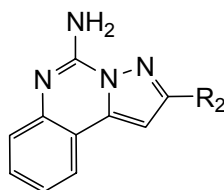
**2:** R<sub>2</sub> = 4-CH<sub>3</sub>OC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>. t = 3 h; Resa: 88%; pf >300°C (AcOH); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO)δ: 3.84 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 7.09 (d, 2H, ar, J = 8.76 Hz), 7.31-7.36 (m, 2H, ar), 7.53 (t, 1H, ar, J = 7.07 Hz), 7.67 (s, 1H, protone pirazolo), 7.96 (d, 2H, ar, J = 8.72 Hz), 8.05 (d, 1H, ar, J = 7.84 Hz), 11.82 (s, 1H, NH); IR: 3197, 1725, 1682, 1453, 1376, 1254. Anal. (C<sub>17</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>) C, H, N.

**3:** R<sub>2</sub> = 2-furil. t = 30'; Resa: 90%; pf 303-304°C (AcOH) (pf lett. 304-305°C)<sup>[115]</sup>. Anal. (C<sub>14</sub>H<sub>9</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>) C, H, N.

**4:** R<sub>2</sub> = 2-tienil. t = 30'; Resa: 75%; pf 297-299°C (AcOH) (pf lett. 299-300°C)<sup>[115]</sup>. Anal. (C<sub>14</sub>H<sub>9</sub>N<sub>3</sub>OS) C, H, N.

**6:** R<sub>2</sub> = COOEt. t: 30'; Resa: 82%; pf 254-255°C (AcOEt/EtOH) (pf lett. 255-256°C)<sup>[116]</sup>. Anal (C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>) C, H, N.

### 2-(Etero)aril-pirazolo[1,5-c]-chinazolin-5-ammine (9-12)



Ad una soluzione dell'opportuno 2-ammino-pirazolo **18-21** (1.06 mmol) in N-metilpirrolidone (5 ml), si aggiunge cianammide (6.12 mmol) e acido p-toluensolfonico (1.06 mmol) e si scalda a riflusso fino a scomparsa del prodotto di partenza (t). La soluzione viene diluita con AcOEt (100 ml) e l'eccesso di cianammide viene filtrato via; le acque madri sono concentrate sotto vuoto e lavate con H<sub>2</sub>O (3 x 20 ml). La fase organica viene anidrificata su Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ed evaporata sotto vuoto. Nel caso dei derivati **9** e **10**, i solidi ottenuti vengono purificati rispettivamente su colonna cromatografia, eluente

CHX/AcOEt (5:5) e per cristallizzazione; invece, i composti **11** e **12**, dopo evaporazione della fase organica, forniscono sostanze oleose che, riprese con H<sub>2</sub>O, danno dei solidi purificati su colonna di silice, eluenti rispettivamente CHCl<sub>3</sub>/MeOH (9.5:0.5) e CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/AcOEt (9.5:0.5).

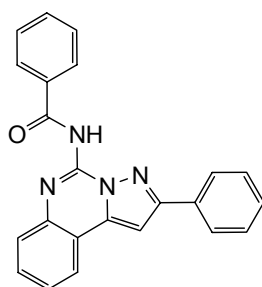
**9:** R<sub>2</sub> = C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>. t: 1 h; Resa: 20%; pf 233-235°C (AcOEt); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO)δ: 7.32 (t, 1H, ar, J = 7.35 Hz), 7.45-7.57 (m, 5H, ar), 7.60 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 7.73 (s, 1H, protone pirazolo), 8.09 (d, 1H, ar, J = 7.72 Hz), 8.13 (d, 2H, ar, J = 8.48 Hz); IR: 3450, 3405. Anal (C<sub>16</sub>H<sub>12</sub>N<sub>4</sub>) C, H, N.

**10:** R<sub>2</sub> = 4-CH<sub>3</sub>OC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>. t: 2 h; Resa: 87%; pf 243-244°C (toluene); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO)δ: 3.84 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 7.09 (d, 2H, ar, J = 7.12 Hz), 7.30 (t, 1H, ar, J = 7.24 Hz), 7.47-7.52 (m, 2H, ar), 7.55 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 7.62 (s, 1H, protone pirazolo), 8.03-8.07 (m, 2H, ar); IR: 3447, 1610, 1461. Anal (C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O) C, H, N.

**11:** R<sub>2</sub> = 2-furil. t: 1 h; Resa: 27%; pf 253-255°C (AcOEt); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO)δ: 6.70-7.73 (m, 1H, ar), 7.08 (d, 1H, ar, J = 3.21 Hz), 7.33 (t, 1H, ar, J = 7.28 Hz), 7.49-7.58 (m, 3H, ar), 7.70 (s br, 2H, NH<sub>2</sub>), 7.90 (s, 1H, protone pirazolo), 8.10 (d, 1H, ar, J = 7.56 Hz); IR: 3445, 3405, 1676. Anal (C<sub>14</sub>H<sub>10</sub>N<sub>4</sub>O) C, H, N.

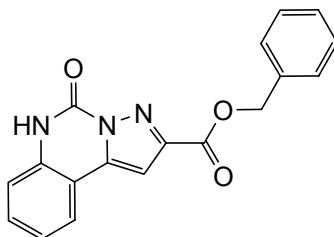
**12:** R<sub>2</sub> = 2-tienil. t: 1 h; Resa: 71 %; pf 170-171°C (2-metossietanolo); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO)δ: 7.22-7.24 (m, 1H, ar), 7.32 (t, 1H, ar, J = 7.40 Hz), 7.48-7.50 (m, 1H, ar), 7.55 (t, 1H, ar, J = 8.16 Hz), 6.59 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 7.62 (s, 1H, protone pirazolo), 6.69 (d, 1H, ar, J = 4.88 Hz), 7.74 (d, 1H, ar, J = 3.48 Hz), 8.07 (d, 1H, ar J = 7.68 Hz); IR: 3441, 1462. Anal (C<sub>14</sub>H<sub>10</sub>N<sub>4</sub>S) C, H, N.

### 2-Fenil-pirazolo[1,5-c]chinazolin-5-benzammide (**13**)



Una soluzione di cloruro di benzilile (3 mmol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  dry (5 ml), viene aggiunta goccia a goccia a  $0^\circ\text{C}$  ad una sospensione del 5-ammino derivato **9** (1 mmol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  dry (30 ml) contenente Py anidra (10 mmol). Terminata l'aggiunta, la miscela di reazione è mantenuta sotto agitazione a temperatura ambiente per 12 h. La soluzione ottenuta viene lavata con  $\text{H}_2\text{O}$  (3 x 30 ml), anidrificata su  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  ed evaporata sotto vuoto a dare un olio rosso mattone che, trattato con poco  $\text{Et}_2\text{O}$ , porta alla formazione di un precipitato bianco filtrabile. Il prodotto grezzo viene purificato per cromatografia su colonna di silice usando come eluente CHX/AcOEt (6:4). Resa: 23 %; pf  $178\text{-}180^\circ\text{C}$  (EtOH);  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO) $\delta$ : 7.46 (t, 1H, ar,  $J = 7.28$  Hz), 7.53 (t, 2H, ar,  $J = 7.38$  Hz), 7.60-7.79 (m, 5H, ar), 7.86 (d, 1H, ar,  $J = 7.88$  Hz), 7.96 (s, 1H, protone pirazolo), 8.06 (d, 2H, ar,  $J = 7.12$  Hz), 8.13-8.16 (m, 2H, ar), 8.30 (d, 2H, ar,  $J = 7.81$  Hz), 11.29 (s, 1H, NH); IR: 3350, 1632. Anal. ( $\text{C}_{23}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}$ ) C, H, N.

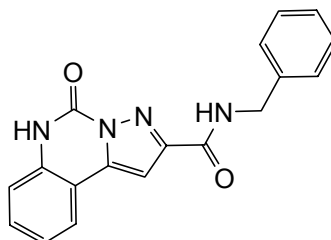
#### 5,6-Diidro-5-oxo-pirazolo[1,5-c]chinazolin-2-carbossilato di benzile (**7**)



La sospensione contenente acido 2-carbossilico **109** (1.74 mmol) e cloruro di tionile (12ml x 1 mmol) è riscaldata a riflusso per 4 h. Dopo distillazione dell'eccesso del cloruro acido e due lavaggi con CHX (2 x 30 ml), si aggiunge THF anidro (50 ml) e benzoil alcol (13 ml x 1 mmol) e si scalda a riflusso per 7 h. Dopo distillazione sotto vuoto del THF, il residuo solido è trattato con  $\text{H}_2\text{O}$  (70 ml) e la fase acquosa è estratta con AcOEt (70 ml). La fase organica è lavata con  $\text{H}_2\text{O}$  (3 x 40 ml), anidrificata su  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  ed evaporata sotto vuoto. Si ottiene un olio che, trattato con etere di petrolio, porta alla formazione di un precipitato. Resa: 43%; pf  $270\text{-}272^\circ\text{C}$  (2-metossietanolo);  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO) $\delta$ : 5.43 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 7.29-7.46 (m, 5H, ar), 7.51-7.57 (m, 3H, ar), 7.75 (s, 1H, protone pirazolo), 8.17 (d, 1H, ar,  $J = 7.84$  Hz), 12.12 (s, 1H, NH); IR: 3232, 1733, 1710. Anal ( $\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_3$ ) C, H, N.



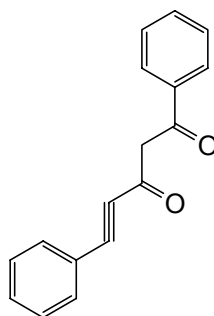
**5-oxo-5,6-diidro-pirazolo[1,5-c]chinazolin-2-(N-benzil-carbossiammide) (8)**



Ad una soluzione di acido 2-carbossilico **109** (1.74 mmol) in DMF dry (33 ml), si aggiungono benzilammina (2.60 mmol), N-(3-dimetilammino)-propil-N'-carbodiimide Cl (1.74 mmol) e 1-idrossibenzotriazolo H<sub>2</sub>O (2 mmol). La miscela di reazione è scaldata a riflusso per 4.5 h. Dopo raffreddamento a temperatura ambiente si aggiunge H<sub>2</sub>O (70 ml) e il precipitato che si forma è filtrato. Resa: 52%; pf >300°C (2-metossietanolo); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO)δ: 4.49 (d, 2H, CH<sub>2</sub>, J = 6.28 Hz), 7.23-7.26 (m, 1H, ar), 7.30-7.38 (m, 6H, ar), 7.55 (t, 1H, ar, J = 7.24 Hz), 7.61 (s, 1H, protone pirazolo), 8.14 (d, 1H, ar, J = 7.16 Hz), 9.24 (t, 1H, NH, J = 6.20 Hz), 12.01 (s br, 1H, NH); IR: 339, 3111, 1732. Anal (C<sub>18</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>) C, H, N.

**PIRAZOLO[1,5-C]PIRIMIDINE 14-16 (Serie B)**

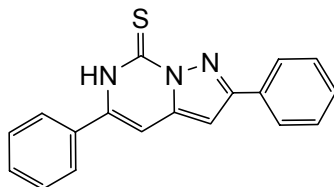
**1,5-difenil-pent-1-ino-3,5-dione (111)<sup>[117]</sup>**



Ad una sospensione di EtONa (5.7 mmol) in etere etilico anidro (40 ml) mantenuta a 0°C, si aggiunge una soluzione eterea (3 ml) di quantità equimolecolari di acetofenone e etilpropionato. La sospensione è lasciata sotto agitazione in bagno di ghiaccio per 24 h e quindi è versata su una soluzione allo 0.5% di Cu(OAc)<sub>2</sub> (50 ml) raffreddata a 0°C. La sospensione ottenuta è lasciata per circa 30' in bagno a ghiaccio ed il precipitato è poi filtrato e lavato con H<sub>2</sub>O e Et<sub>2</sub>O. L'insolubile (sale di Cu<sup>2+</sup>) è sospeso in Et<sub>2</sub>O (100 ml) e trattato con HCl 1M (200 ml). Il sistema bifasico è lasciato sotto agitazione per 30'e

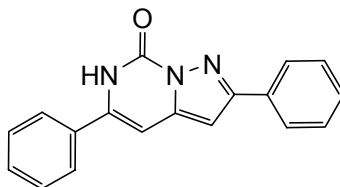
quindi, separate le fasi, quella eterea è lavata con NaHCO<sub>3</sub> 10% (2 x 40 ml), anidrificata su Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ed evaporata sotto vuoto. Resa: 46%; pf 94-96°C (Et<sub>2</sub>O) (pf lett. 94°C)<sup>[107]</sup>. Anal (C<sub>17</sub>H<sub>12</sub>O<sub>2</sub>) C, H, N.

**2,5-difenil-6H-pirazolo[1,5-c]pirimidin-7-tione (14)<sup>[118]</sup>**



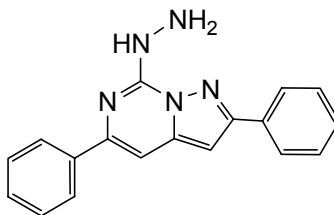
Ad una sospensione del dichetone acetilenico **111** (2.46 mmol) in EtOH (8 ml) si aggiunge tiosemicarbazide (2.46 mmol) e si scalda a riflusso per 4 h. Dopo raffreddamento della soluzione a temperatura ambiente, si filtra il precipitato presente e si lava con Et<sub>2</sub>O. Resa: 40%; pf 237-238°C (MeOH) (pf lett. 236-238°C)<sup>[108]</sup>. Anal (C<sub>18</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>S) C, H, N.

**2,5-difenil-6H-pirazolo[1,5-c]pirimidin-7-one (15)<sup>[118]</sup>**



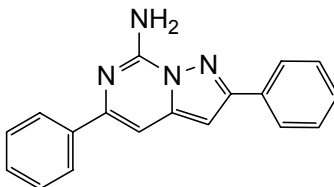
Ad una sospensione di **14** (0.46 mmol) in NaOH 10% (1.4 ml) si aggiunge H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (5.6 ml) e si scalda a 100°C per 2 h. Dopo raffreddamento della reazione a temperatura ambiente e l'aggiunta di HCl fino a pH 6, si forma un precipitato che viene filtrato e lavato con H<sub>2</sub>O e Et<sub>2</sub>O. Resa: 91%; pf 278-279°C (EtOH) (pf lett. 277-278°C)<sup>[108]</sup>. Anal (C<sub>18</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O) C, H, N.

### 2,5-difenil-6H-pirazolo[1,5-c]pirimidin-7-idrazina (**112**)



Ad una sospensione di **14** (0.72 mmol) in EtOH (8 ml) si aggiunge idrazina monoidrata (0.87 mmol) e si scalda a riflusso per 2 giorni. Nuove aggiunte di idrazina (0.5-1 equivalenti) vengono effettuate quando, dopo 24 h dall'inizio della reazione, è ancora presente prodotto di partenza **14** (monitoraggio TLC). Dopo raffreddamento a temperatura ambiente si forma un precipitato che viene filtrato. Resa: 78%; pf 177-178°C (MeOH);  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO) $\delta$ : 4.74 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 7.02 (s, 1H, H-4), 7.40-7.53 (m, 6H ar + H-3), 8.09 (d, 2H, ar,  $J = 7.28$  Hz), 8.24 (d, 2H, ar,  $J = 7.40$  Hz), 8.94 (s, 1H, NH); IR: 3289, 3380, 1456. Anal. ( $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{N}_5$ ) C, H, N.

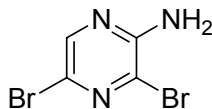
### 2,5-difenil-6H-pirazolo[1,5-c]pirimidin-7-ammina (**16**)<sup>[119]</sup>



Ad una soluzione dell'idrazino-derivato **112** (0.59 mmol) in EtOH (28 ml), si aggiunge Nickel-Raney (2400, sospensione acquosa al 50%, 3.37 g). La miscela di reazione è idrogenata nell'apparecchio Parr a 15 psi per 12 h. Dopo eliminazione del catalizzatore per filtrazione, la soluzione etanolica viene evaporata sotto vuoto. Il solido risultante viene ripreso con  $\text{Et}_2\text{O}$  e filtrato. Resa: 48%; pf 196-197°C (MeOH) (pf lett. 194-196°C)<sup>[109]</sup>;  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO) $\delta$ : 6.99 (s, 1H, H-4), 7.40-7.53 (m, 6H ar + H-3), 7.64 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 8.08-8.10 (m, 4H, ar); IR: 3462, 3335, 1649, 1461. Anal ( $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{N}_4$ ) C, H, N.

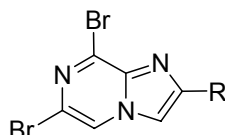
## IMIDAZO[1,2-a]PIRAZINE 23-48 (Serie D)

### 3,5-Dibromo-2-amminopirazina<sup>[93]</sup> (**113**)



Una soluzione di Br<sub>2</sub> (8.41 mmol) in CHCl<sub>3</sub> (50 ml) è aggiunta, goccia a goccia, ad una soluzione mantenuta sotto agitazione, a temperatura ambiente, di 2-amminopirazina (4.2 mmol) e piridina dry (8.41 mmol) in CHCl<sub>3</sub> (50 ml). L'aggiunta, eseguita mantenendo reagenti e prodotti al riparo dalla luce, è completata in 30'. La miscela di reazione è lasciata in agitazione per altri 30'. Si aggiunge quindi H<sub>2</sub>O (150 ml) e si lascia in agitazione per circa 30'. La fase organica, separata da quella acquosa, è di nuovo lavata con H<sub>2</sub>O (30 ml × 3), anidrificata su Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro ed evaporata. Si ottiene un solido giallo-marrone che viene ricristallizzato da opportuno solvente. Resa: 78%; pf 112-114°C (CHX/AcOEt) (p.f. lett. 117-118°C)<sup>[93]</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>)δ: 5.12-5.23 (br s, 2H, NH<sub>2</sub>), 8.06 (s, 1H, pir); I.R. (cm<sup>-1</sup>): 1624, 3154, 3281. Anal (C<sub>4</sub>H<sub>3</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>3</sub>) C, H, N.

### 2-Aril-6,8-dibromoimidazo[1,2-a]pirazina (**114**, **115**)



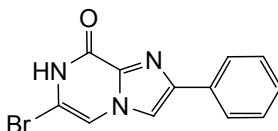
Una miscela omogenea costituita dalla 3,5-dibromo-2-amminopirazina **113** (2.13 mmol) e dall'opportuno α-bromochetone (3.20 mmol) è riscaldata alla temperatura opportuna (T) fino a scomparsa (t) dell'ammina di partenza (monitoraggio TLC). Si ottiene un solido amorfo marrone, molto duro, che viene frantumato, ripreso con piccole quantità di AcOEt e filtrato.

**114:** R = C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>. T = 100°C; t = 18 h; resa: 86%; pf >300°C (EtOH); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>)δ: 7.42 (t, 1H, ar, J = 7.04 Hz), 7.50 (t, 2H, ar, J = 7.72 Hz), 8.04 (d, 2H, ar, J = 7.56 Hz), 8.70 (s, 1H, pir), 9.01 (s, 1H, imi); I.R. (cm<sup>-1</sup>): 1645. Anal (C<sub>12</sub>H<sub>7</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>3</sub>) C, H, N.

**115:** R = 4-OCH<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>. T = 120°C; t = 6 h; resa: 82%; pf 212-216°C (AcOEt/MeOH); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>)δ: 3.83 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 7.07 (d, 2H, ar, J = 8.88 Hz), 7.99 (d, 2H,

ar,  $J = 8.88$  Hz), 8.60 (s, 1H, pir), 8.96 (s, 1H, imi); I.R. ( $\text{cm}^{-1}$ ): 1643, 1651, 1659. Anal ( $\text{C}_{13}\text{H}_9\text{Br}_2\text{N}_3\text{O}$ ) C, H, N.

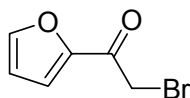
### 6-Bromo-2-fenilimidazo[1,2-a]pirazin-8-one (82)



Una soluzione di **114** (0.71 mmol) in diossano (5 ml) è aggiunta a una soluzione di NaOH (7.1 mmol) e la miscela di reazione è scaldata a riflusso per 6 h.

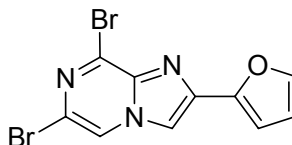
Dopo raffreddamento a temperatura ambiente la soluzione ottenuta è diluita con  $\text{H}_2\text{O}$  (60 ml); si forma così unprecipitato che viene filtrato e poi disciolto in  $\text{H}_2\text{O}$ ; la soluzione è acidificata con acido acetico fino a pH 5-6. Si forma un nuovo precipitato che viene filtrato. Resa: 99%; pf 208-209°C ( $\text{Et}_2\text{O}$ /Etere di petrolio);  $^1\text{H}$ -NMR ( $\text{DMSO-d}_6$ ) $\delta$ : 7.33 (t, 1H, ar,  $J = 7.32$  Hz), 7.45 (t, 2H, ar,  $J = 7.80$  Hz), 7.81 (s, 1H, pir), 7.91 (d, 2H, ar, 7.16 Hz), 8.18 (s, 1H, imi), 12.18 (s br, 1H, NH); IR: 1660. Anal ( $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{BrN}_3\text{O}$ ) C, H, N.

### 2-( $\alpha$ -Bromoacetil)-furano<sup>[120]</sup> (117)



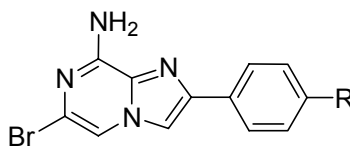
Ad una soluzione di 2-acetilfurano (18.16 mmol) in  $\text{CHCl}_3$  (20 ml) si aggiunge goccia a goccia una soluzione di  $\text{Br}_2$  (18.16 mmol) in  $\text{CHCl}_3$  (25 ml). L'aggiunta, che viene eseguita mantenendo reagenti e prodotti al riparo dalla luce, è completata nell'arco di 1.5 h. Si aggiunge quindi  $\text{H}_2\text{O}$  (50 ml) e ghiaccio (50 g) e si lascia in agitazione per 30' circa. La fase organica, separata da quella acquosa, è lavata con  $\text{H}_2\text{O}$  (50 ml  $\times$  3), anidrificata su  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro, filtrata ed evaporata sotto vuoto. Si ottiene un olio giallino che col tempo imbrunisce. Il prodotto è ottenuto in miscela con il 2-( $\alpha,\alpha$ -dibromoacetil)-furano ed il 2-acetilfurano di partenza. Il grezzo viene utilizzato come tale per il passaggio successivo. Resa: 70%;  $^1\text{H}$ -NMR ( $\text{DMSO-d}_6$ ) $\delta$ : 4.64 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 6.76-6.77 (m, 1H, fur), 7.64 (m, 1H, fur), 8.07 (m, 1H, fur); IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 1674. Anal ( $\text{C}_6\text{H}_3\text{BrO}_2$ ) C, H, N.

### 6,8-Dibromo-2-(2-furil)-imidazo[1,2-a]pirazina (116)



Una miscela omogenea costituita dalla 3,5-dibromo-2-amminopirazina **113** (1.58 mmol) e dal 2-( $\alpha$ -bromoacetil)furano (grezzo) **117** (1,76 mmol), è riscaldata a 100°C per 5 h. Il solido amorfo ottenuto è ripreso con AcOEt (20 ml) e poi posto in agitazione in EtOH (50 ml) a freddo per una notte. L'insolubile è filtrato via ed il solvente evaporato sotto vuoto. Il prodotto che si ottiene è sciolto in AcOEt (30 ml) e la fase organica è lavata con H<sub>2</sub>O, anidrificata su Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, filtrata ed evaporata sotto vuoto. Il prodotto è purificato per cromatografia su colonna usando come eluente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Resa: 25%; pf 216-218°C (CHX); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ : 6.68 (m, 1H, fur), 7.08 (m, 1H, fur), 7.86 (m, 1H, fur), 8.44 (s, 1H, pir), 8.97 (s, 1H, imi); I.R. (cm<sup>-1</sup>): 1624, 1654, 1685. Anal (C<sub>10</sub>H<sub>5</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O) C, H, N.

### 6-Bromo-2-aril-imidazo[1,2-a]pirazin-8-ammina (23, 24)

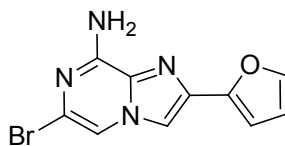


Una sospensione dell'opportuno 6,8-dibromo-derivato **114**, **115** (0.70 mmol) in EtOH assoluto (10 ml) saturo di NH<sub>3</sub>, viene riscaldata in tubo chiuso a 120°C per una notte. Dopo raffreddamento in bagno a ghiaccio, il solido in sospensione viene raccolto per filtrazione.

**23:** R = H. Resa: 82%; pf 283-285°C (toluene); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ : 7.35 (t, 1H, ar, J = 7.24 Hz), 7.33-7.48 (m, 4H, 2H ar + 2H NH<sub>2</sub>), 7.96 (d, 2H, ar, J = 7.60 Hz), 8.03 (s, 1H, pir), 8.29 (s, 1H, imi); I.R. (cm<sup>-1</sup>): 1642, 3117, 3170, 3302. . Anal (C<sub>12</sub>H<sub>11</sub>BrN<sub>4</sub>) C, H, N.

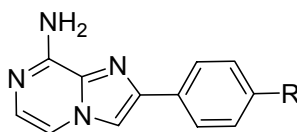
**24:** R = 4-OCH<sub>3</sub>. Resa: 27%; pf 286-287°C (AcOEt); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ : 3.81 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 7.03 (d, 2H, ar, J = 8.56 Hz), 7.34 (br s, 2H, NH<sub>2</sub>), 7.88 (d, 2H, ar, J = 8.36 Hz), 8.00 (s, 1H, pir), 8.03 (s, 1H, imi); IR (cm<sup>-1</sup>): 1644, 3132, 3165, 3300. Anal (C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>BrN<sub>4</sub>O) C, H, N.

### 6-Bromo-2-furil-imidazo[1,2-a]pirazin-8-ammina (25)



Una sospensione del 6,8-dibromo-derivato **116** (1.02 mmol) in EtOH assoluto (20 ml) saturo di NH<sub>3</sub>, viene riscaldata in tubo chiuso a 120°C per una notte (15 h). Dopo raffreddamento in bagno a ghiaccio, si aggiunge H<sub>2</sub>O (40 ml), e si estrae con AcOEt (40 ml); la fase organica è lavata con H<sub>2</sub>O (40 ml × 3), anidrificata su Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, ed evaporata sotto vuoto. Resa: 61% ; pf 234-238°C (Et<sub>2</sub>O); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>)δ: 6.61 (m, 1H, fur), 6.83 (m, 1H, fur, J = 2.60 Hz), 7.52 (br s, 2H, NH<sub>2</sub>), 7.76 (m, 1H, fur), 8.02 (s, 1H, pir), 8.08 (s, 1H, imi); IR (cm<sup>-1</sup>): 1643, 3182, 3304. Anal (C<sub>10</sub>H<sub>7</sub>BrN<sub>4</sub>O) C, H, N.

### 2-Aril-imidazo[1,2-a]pirazin-8-ammina (26, 27)

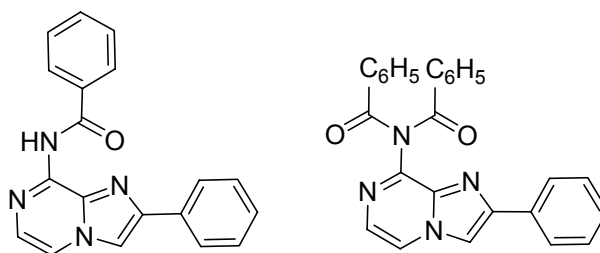


L'opportuno 6-bromo-derivato **23, 24** (0.4 mmol) viene sciolto a caldo in MeOH (60 ml). Dopo raffreddamento a temperatura ambiente si aggiunge il catalizzatore Pd/C al 10% (40% in peso) e si idrogena nell'apparecchio di Parr a 20 psi per una notte (15h). Il catalizzatore è allontanato per filtrazione, il solvente è evaporato sotto vuoto ed il solido ottenuto è sciolto in H<sub>2</sub>O (60 ml). La soluzione viene alcalinizzata con NaHCO<sub>3</sub> soluzione satura. Il solido bianco che precipita è isolato per filtrazione.

**26:** R = H. Resa: 80%; pf 208-209°C (Et<sub>2</sub>O/Etere di petrolio); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>)δ: 6.88 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 7.21 (d, 1H, pir (H<sub>6</sub>), J = 4.56 Hz), 7.33 (t, 1H, ar, J = 7.32 Hz), 7.46 (t, 2H, ar, J = 7.52 Hz), 7.77 (d, 1H, pir (H<sub>5</sub>), J = 4.56 Hz), 7.97 (d, 2H, ar, J = 7.32 Hz), 8.33 (s, 1H, imi); IR (cm<sup>-1</sup>): 1630, 3130, 3273, 3444. Anal (C<sub>12</sub>H<sub>10</sub>N<sub>4</sub>) C, H, N.

**27:** R = -OCH<sub>3</sub>. Resa: 44%; pf 249- 250°C (AcOEt); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>)δ: 3.80 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 6.83 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 7.02 (d, 2H, ar, J = 8.68 Hz), 7.19 (d, 1H, pir (H<sub>6</sub>), J = 4.56 Hz), 7.74 (d, 1H, pir (H<sub>5</sub>), J = 4.56 Hz), 7.89 (d, 2H, ar, J = 8.68 Hz), 8.21 (s, 1H, imi); IR (cm<sup>-1</sup>): 1627, 3142, 3283, 3445. Anal (C<sub>13</sub>H<sub>12</sub>N<sub>4</sub>O) C, H, N.

**2-Fenil-imidazo[1,2-a]pirazin-8-benzamide (28) e 2-Fenil-imidazo[1,2-a]pirazin-8-dibenzamide (29)**



Ad una soluzione dell'8-amminoderivato **26** (0.47 mmol) e Py anidra (3 ml) in THF anidro (8 ml) si aggiunge, goccia a goccia, il benzoil cloruro (0.57 mmol) diluito in THF anidro (2 ml). La miscela di reazione è riscaldata a refluxo per 6 h.

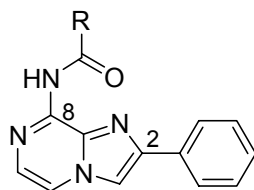
Si porta a temperatura ambiente e si aggiunge H<sub>2</sub>O (20 ml) e ghiaccio (50 g); la sospensione ottenuta è lasciata in agitazione per 30'. Il solido, raccolto per filtrazione, è costituito dalla miscela del derivato mono **28** e bi-acilato **29** (rapporto 1:2, dosaggio <sup>1</sup>H-NMR). La miscela viene separata per cromatografia su colonna di silice, eluente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/AcOEt (5:5). Gli eluati della frazione di testa (derivato **29**) e della frazione centrale (derivato **28**) vengono quindi evaporati sotto vuoto.

**28:** Resa: 27%; pf 179-180°C (Et<sub>2</sub>O/Etere di petrolio); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>)δ: 7.37 (t, 1H, ar, J = 7.36 Hz), 7.47 (t, 2H, ar, J = 7.32 Hz), 7.58 (t, 2H, ar, J = 7.64 Hz), 7.66 (t, 1H, ar, J = 7.40 Hz), 7.74 (br s, 1H, pir (H<sub>6</sub>)), 8.0 (d, 2H, ar, J = 7.24 Hz), 8.09 (d, 2H, ar, J = 6.88 Hz), 8.48 (br s, 1H, pir (H<sub>5</sub>)), 8.63 (s, 1H, imi), 10.87 (br s, 1H, NH); IR (cm<sup>-1</sup>): 1627, 1700, 3391. Anal (C<sub>19</sub>H<sub>15</sub>N<sub>4</sub>O) C, H, N.

**29:** Resa: 41%; pf 219-220°C dec. (EtOH); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>)δ: 7.38 (t, 1H, ar, J = 7.16 Hz), 7.47-7.49 (m, 6H, ar), 7.59 (t, 2H, ar, J = 7.12 Hz), 7.68 (d, 1H, pir (H<sub>6</sub>), J = 4.36 Hz), 7.83 (d, 4H, ar, J = 7.56 Hz), 7.93 (d, 2H, ar, J = 7.56 Hz), 8.56 (d, 1H, pir (H<sub>5</sub>), J = 4.40 Hz), 8.68 (s, 1H, imi); IR (cm<sup>-1</sup>): 1697, 3396. Anal (C<sub>19</sub>H<sub>15</sub>N<sub>4</sub>O) C, H, N. Anal (C<sub>26</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>) C, H, N.



## 2-Fenil-imidazo[1,2-a]pirazin-8-ammidi (30-35)



Una miscela costituita dall' 8-amminoderivato **26** (1.43 mmol), dall'acido carbossilico opportuno (10.01 mmol), dall'1-(3-(dimetilammino)propil)-3-etilcarbodiimmideHCl (10.01 mmol), dall'1-idrossi-benzotriazolo (10.01 mmol), dalla trietilammina (21.45 mmol) e dalla 4-dimetilamminopiridina (0.143 mmol) in DMF anidra (3ml) è lasciata sotto agitazione a temperatura ambiente fino a scomparsa del prodotto di partenza (t).

**30:** R = CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>. t: 8 giorni; la sospensione risultante è trattata con H<sub>2</sub>O (50 ml) e quindi estratta con AcOEt (30 ml). La fase organica è seccata su Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro ed evaporata sotto vuoto. Il solido risultante è purificato per cromatografia su colonna di silice, eluente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/AcOEt/MeOH (6:3:1). Gli eluati di testa sono stati evaporati sotto vuoto e poi ripresi con poco Et<sub>2</sub>O. Resa: 9%; pf 177-179°C (Et<sub>2</sub>O); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>)δ: 3.96 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 7.27 (t, 1H, ar, J = 7.32 Hz), 7.34-7.43 (m, 5H, ar), 7.51 (t, 2H, ar, J = 7.44 Hz), 7.63 (d, 1H, pir (H<sub>6</sub>), J = 4.56 Hz), 8.04 (d, 2H, ar, J = 7.64 Hz), 8.36 (d, 1H, pir (H<sub>5</sub>), J = 4.48 Hz), 8.58 (s, 1H, imi), 10.54 (br s, 1H, NH); IR (cm<sup>-1</sup>): 1670, 3357. Anal (C<sub>20</sub>H<sub>16</sub>N<sub>4</sub>O) C, H, N.

**31:** R = CH(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>. t: 20 h; la soluzione ottenuta è trattata con H<sub>2</sub>O (20 ml); il precipitato che si forma viene filtrato, purificato per cromatografia su colonna, usando come eluente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/AcOEt (5:5). Resa: 62%; pf 90-92°C (CHX/AcOEt gtt); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>)δ: 5.67 (s, 1H, CH), 7.27-7.32 (m, 2H, ar), 7.36-7.42 (m, 5H, ar), 7.47 (d, 4H, ar, J = 7.44 Hz), 7.51 (t, 2H, ar, J = 7.72 Hz), 7.65 (d, 1H, pir (H<sub>6</sub>), J = 4.52 Hz), 8.04 (d, 2H, ar, J = 7.32 Hz), 8.39 (d, 1H, pir (H<sub>5</sub>), J = 4.52 Hz), 8.58 (s, 1H, imi), 10.84 (s, 1H, NH); IR: 1701. Anal (C<sub>26</sub>H<sub>20</sub>N<sub>4</sub>O) C, H, N.

**32:** R = 4-CH<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>. t: 10 giorni; la sospensione ottenuta è trattata con H<sub>2</sub>O (40 ml); il precipitato che si forma viene filtrato e purificato per cromatografia su colonna di silice, eluente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/AcOEt/MeOH (7:2:1). Gli eluati di testa vengono raccolti ed evaporati sotto vuoto a dare un solido bianco. Resa: 59%; pf 202-203°C (Et<sub>2</sub>O); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>)δ: 2.43 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 7.38 (m, 3H, ar), 7.47 (t, 2H, ar, J = 7.12 Hz), 7.74 (d,

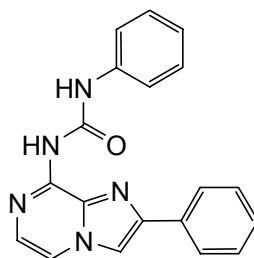
1H, pir (H<sub>6</sub>), J = 4.56 Hz), 7.99-8.01 (m, 4H, ar), 8.48 (br s, 1H, pir (H<sub>5</sub>), J = 4.32 Hz), 8.62 (s, 1H, imi), 10.75 (br s, 1H, NH); IR (cm<sup>-1</sup>): 1703, 3103, 3407. Anal (C<sub>20</sub>H<sub>16</sub>N<sub>4</sub>O) C, H, N.

**33:** R = 4-CH<sub>3</sub>OC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>. t: 13 giorni; la miscela di reazione è trattata con H<sub>2</sub>O (60 ml; il precipitato che si forma viene separato per filtrazione e purificato per cromatografia su colonna di silice, eluente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/AcOEt/MeOH (7:2:1). Gli eluati di testa vengono raccolti ed evaporati sotto vuoto. Il solido bianco viene cristallizzato da opportuno solvente. Resa: 75% ; pf 197-198°C (CHX/AcOEt); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>)δ: 3.88 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 7.11 (d, 2H, ar, J = 8.24 Hz), 7.37 (t, 1H, ar, J = 8.02 Hz), 7.47 (t, 2H, ar, J = 7.80 Hz), 7.74 (d, 1H, pir (H<sub>6</sub>), J = 4.48 Hz), 8.00 (d, 2H, ar, J = 7.76 Hz), 8.06 (d, 2H, ar, J = 8.16 Hz), 8.48 (d, 1H, pir (H<sub>5</sub>), J = 4.36 Hz), 8.62 (s, 1H, imi), 10.68 (s, 1H, NH); IR (cm<sup>-1</sup>): 1643, 1695, 3237. Anal (C<sub>20</sub>H<sub>16</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>) C, H, N.

**34:** R = 2-furil. t: 7 giorni; la sospensione risultante è trattata con H<sub>2</sub>O (40 ml) e quindi estratta con AcOEt (20 ml × 3). La fase organica è seccata su Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro ed evaporata sotto vuoto. Il solido risultante è purificato per cromatografia su colonna di silice, eluente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/AcOEt/MeOH (7:2:1). Resa: 22%; pf 199-200°C (Et<sub>2</sub>O); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>)δ: 6.77 (d, 1H, fur), 7.39 (t, 1H, ar, J = 7.16 Hz), 7.47-7.50 (m, 3H, 2H ar + 1H fur), 7.73 (d, 1H, pir (H<sub>6</sub>)), 8.01-8.04 (m, 3H, 2H ar + 1H fur), 8.47 (d, 1H, pir (H<sub>5</sub>)), 8.63 (s, 1H, imi), 10.58 (br s, 1H, NH); IR (cm<sup>-1</sup>): 1692, 3383. Anal (C<sub>17</sub>H<sub>12</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>) C, H, N.

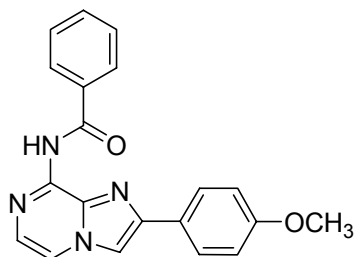
**35:** R = 3-piridil. t: 13 giorni; la miscela di reazione è trattata con H<sub>2</sub>O (30 ml), ed il precipitato che si forma viene separato per filtrazione e cristallizzato da opportuno solvente. Resa: 53%; pf 163-164°C (EtOH); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>)δ: 7.38 (t, 1H, ar, J = 7.36 Hz), 7.47 (t, 2H, ar, J = 7.36 Hz), 7.62 (m, 1H, ar), 7.76 (br s, 1H, ar), 8.01 (d, 2H, ar, J = 7.40 Hz), 8.39 (br s, 1H, ar), 8.52 (br s, 1H, ar), 8.65 (s, 1H, imi), 8.82 (d, 1H, pir (H<sub>5</sub>), J = 3.80 Hz), J = 3.80 Hz), 9.19 (br s, 1H, ar), 11.20 (br s, 1H, NH); IR (cm<sup>-1</sup>): 1702, 3100, 3246. Anal (C<sub>18</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>O) C, H, N.

### 2-fenilimidazo[1,2-a]pirazin-8-il)fenilurea (36)



Ad una soluzione dell'8-amminoderivato **26** (0.95 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (4 ml) si aggiunge, goccia a goccia, il fenilisocianato (0.95 mmol) diluito CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (6 ml). La miscela di reazione è lasciata a temperatura ambiente per 20 h. Si ottiene una sospensione che viene filtrata. Il solido ottenuto è purificato per cristallizzazione. Resa: 83%; pf 222-224°C (EtOH); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>)δ: 7.10 (t, 1H, ar, J = 7.40 Hz), 7.34-7.42 (m, 3H, 2H ar + 1H (H<sub>5</sub>), pir), 7.48 (t, 2H, ar, J = 7.20 Hz), 7.63-7.65 (m, 3H, ar), 8.07 (d, 2H, ar, J = 7.24 Hz), 8.24 (d, 1H (H<sub>6</sub>), pir, J = 4.68 Hz), 8.59 (s, 1H, imi), 9.20 (s, 1H, NH), 11.60 (s, 1H, NH); IR: 3407, 3139, 1701. Anal (C<sub>19</sub>H<sub>15</sub>N<sub>5</sub>O) C, H, O.

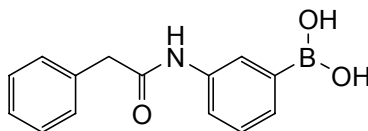
### 2-(4-Metossifenil)-imidazo[1,2-a]pirazin-8-benzammide (37)



Una soluzione di benzoil cloruro (0.40 mmol) in THF dry (2 ml) è aggiunta, goccia a goccia, ad una soluzione dell'8-ammino-derivato **24** (0.33 mmol) in THF (8 ml) e Py anidra (3 ml). La reazione è riscaldata a refluxo, in ambiente di gas inerte (N<sub>2</sub>). Dopo 48h la sospensione, raffreddata a r.t., è trattata con H<sub>2</sub>O e ghiaccio (50 ml): si ottiene una soluzione che viene estratta con AcOEt (40 ml). La fase organica è lavata con H<sub>2</sub>O (50 ml × 3), anidrificata su Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ed evaporata sotto vuoto. Si ottiene un solido che è purificato per cromatografia su colonna di silice, eluente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/AcOEt/MeOH (7:2:1). Gli eluati di testa vengono raccolti ed evaporati. Resa: 9%; pf 194-195°C (AcOEt); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>)δ: 3.80 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 7.02 (d, 2H, ar, J = 8.64 Hz), 7.58 (t, 2H, ar, J = 7.48 Hz), 7.66 (t, 1H, ar, J = 7.04 Hz), 7.73 (d, 1H, pir (H<sub>6</sub>), J = 4.52 Hz), 7.93 (d, 2H,

ar,  $J = 8.52$  Hz), 8.07 (d, 2H, ar,  $J = 7.44$  Hz), 8.47 (d, 1H, pir ( $H_5$ ),  $J = 4.40$  Hz), 8.53 (s, 1H, imi), 10.83 (s, 1H, NH); IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 1685, 1702, 340. Anal ( $\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_2$ ) C, H, N.

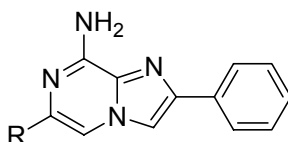
#### Acido 3-(2-fenil acetammide)fenilboronico (140)



Una soluzione di 2-fenilacetil cloruro (2.92 mmol) in THF dry (4 mL) è aggiunta, goccia a goccia, ad una soluzione di acido 3-amminofenilboronico (1.46 mmol) in THF (4 mL) e  $\text{Et}_3\text{N}$  (7.3 mmol). La miscela di reazione è lasciata a temperatura ambiente per 1 h.

Si aggiunge  $\text{H}_2\text{O}$  (15 mL) e si lascia in agitazione per 30'; la fase organica è quindi separata da quella acquosa per estrazione con AcOEt (2 x 20 mL), anidrificata su  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro ed evaporata sotto vuoto. Resa: 48%;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ ) $\delta$ : 3.63 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 7.23-7.36 (m, 6H, ar), 7.46 (d, 1H, ar,  $J = 7.32$  Hz), 7.71 (d, 1H, ar,  $J = 8.00$  Hz), 7.83 (s, 1H, ar), 8.04 (s, 2H, 2OH), 10.09 (s, 1H, NH). Anal ( $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{NO}_3\text{B}$ ) C, H, N.

#### 6-Aril-2-fenil-imidazo[1,2-a]pirazin-8-ammine (38-45)



Una miscela costituita dal 6-bromo-derivato **23** (0.86 mmol), tetrakis (0.08 mmol), l'opportuno acido boronico (1.29 mmol) e  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (8.64 mmol) in DME / $\text{H}_2\text{O}$  (3:1) (15 ml) è riscaldata ad  $85^\circ\text{C}$  in ambiente di gas inerte ( $\text{N}_2$ ) fino a scomparsa del prodotto di partenza (t).

**38:** R =  $-\text{C}_6\text{H}_5$ . t: 15 h; alla miscela di reazione, mantenuta a temperatura ambiente, è aggiunta  $\text{H}_2\text{O}$  (180 ml); il solido che si forma viene filtrato e purificato per cromatografia su colonna di silice, eluente CHX/AcOEt (6:4). Gli eluati vengono raccolti ed evaporati sotto vuoto. Resa: 61%; pf  $207\text{--}208^\circ\text{C}$  (EtOH);  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ ) $\delta$ : 7.08 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 7.33-7.38 (m, 2H, ar), 7.44-7.49 (m, 4H, ar), 7.96-8.01 (m, 4H,

ar), 8.34 (s, 1H, ar), 8.39 (s, 1H, ar); IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 1643, 3181, 3304. Anal ( $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{N}_4$ ) C, H, N.

**39:** R = 4- $\text{ClC}_6\text{H}_4$ . t: 16 h; La sospensione ottenuta è trattata con  $\text{H}_2\text{O}$  (60 ml); il solido ottenuto è separato per filtrazione, lavato con  $\text{Et}_2\text{O}$  e purificato per cromatografia su colonna di  $\text{SiO}_2$ , eluente CHX/AcOEt (5:5). Gli eluati di testa vengono evaporati sotto vuoto ed il solido bianco ottenuto è lavato con etere etilico. Resa: 7%; pf. 223-225°C ( $\text{Et}_2\text{O}$ );  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ ) $\delta$ : 7.13 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 7.35 (t, 1H, ar,  $J = 7.52$  Hz), 7.47 (t, 2H, ar,  $J = 7.36$  Hz), 7.52 (d, 2H, ar,  $J = 8.56$  Hz), 7.99-8.01 (m, 4H, ar), 8.34 (s, 1H, ar), 8.45 (s, 1H, ar); IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 1640, 3381. Anal ( $\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{ClN}_4$ ) C, H, N.

**40:** R = 3- $\text{CH}_3\text{OC}_6\text{H}_4$ . t: 15 h; la miscela di reazione, raffreddata a temperatura ambiente, è trattata con  $\text{H}_2\text{O}$  (60 ml): si forma un precipitato che viene filtrato e purificato per cromatografia su colonna di silice, eluente  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$  (8:2). Resa: 51%; pf 198-200°C (CHX/AcOEt);  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ ) $\delta$ : 3.84 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 6.93 (d, 1H, ar,  $J = 8.16$  Hz), 7.06 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 7.33-7.39 (m, 2H, ar), 7.47 (t, 2H, ar,  $J = 7.52$  Hz), 7.53-7.55 (m, 2H, ar), 8.01 (d, 2H, ar,  $J = 7.60$  Hz), 8.33 (s, 1H, ar), 8.41 (s, 1H, ar); IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 1643, 3158, 3307. Anal ( $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}$ ) C, H, N.

**41:** R = 4- $\text{CH}_3\text{OC}_6\text{H}_4$ . t: 2 h; la miscela di reazione, portata a temperatura ambiente, è trattata con  $\text{H}_2\text{O}$  (60 ml); il precipitato che si forma viene filtrato. Le AM vengono estratte con AcOEt (20 ml  $\times$  3) e le fasi organiche riunite, seccate su  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro ed evaporate. Il residuo ottenuto è trattato con  $\text{Et}_2\text{O}$  (2 ml) ed il solido che si separa è raccolto per filtrazione, e riunito al precipitato precedentemente ottenuto. Il prodotto desiderato viene purificato per cromatografia su colonna di silice, eluente CHX/AcOEt (5:5). Gli eluati centrali vengono evaporati sotto vuoto. Resa: 19%; pf 219-221°C (AcOEt);  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ ) $\delta$ : 3.81 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 7.01-7.03 (m, 4H, 2ar,  $\text{NH}_2$ ), 7.35 (t, 1H, ar,  $J = 7.20$  Hz), 7.47 (t, 2H, ar,  $J = 7.40$  Hz), 7.90 (d, 2H, ar,  $J = 8.80$  Hz), 7.99 (d, 2H, ar,  $J = 7.32$  Hz), 8.29 (s, 1H, ar), 8.31 (s, 1H, ar); IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 1640, 3181. Anal ( $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}$ ) C, H, N.

**42:** R = 4- $\text{C}_6\text{H}_4\text{CH}_2\text{OC}_6\text{H}_5$ . t: 16 h; la sospensione ottenuta è diluita con  $\text{H}_2\text{O}$  (60 ml) ed il solido ottenuto è filtrato, lavato con  $\text{Et}_2\text{O}$  ed estratto a caldo in MeOH (2 h). L'insolubile viene quindi filtrato e trattato nuovamente con etere. Resa: 6%; pf. 211-212°C (AcOEt);  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ ) $\delta$ : 5.16 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 7.03 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 7.10 (d,

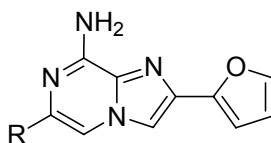
2H, ar,  $J = 8.0$  Hz), 7.35-7.48 (m, 8H, ar), 7.90 (d, 2H, ar,  $J = 7.68$  Hz), 7.99 (d, 2H, ar,  $J = 7.72$  Hz), 8.30 (s, 1H, ar), 8.31 (s, 1H, ar); IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 1648, 3267. Anal ( $\text{C}_{25}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}$ ) C, H, N.

**43:** R = 3- $\text{C}_6\text{H}_4\text{COOH}$ . t: 6 h; la sospensione ottenuta è filtrata e le acque madri vengono evaporate sotto vuoto e riprese con AcOEt (20 ml). Si forma così un precipitato che viene sciolto in  $\text{H}_2\text{O}$  (15 ml). La soluzione acquosa è portata a pH 6 con acido acetico ed estratta con AcOEt (3 x 20 ml). Le fasi organiche riunite sono anidificate su  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro ed evaporate sotto vuoto, ottenendo un solido che viene lavato con  $\text{Et}_2\text{O}$ . Resa: 20%; pf. 197-199°C dec. (MeOH);  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ ) $\delta$ : 7.14 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 7.35 (t, 1H, ar,  $J = 7.52$  Hz), 7.48 (t, 2H, ar,  $J = 7.60$  Hz), 7.58 (t, 1H, ar,  $J = 7.68$  Hz), 7.93 (d, 1H, ar,  $J = 7.56$  Hz), 8.00 (2, 2H, ar,  $J = 8.08$  Hz), 8.18 (d, 1H, ar,  $J = 7.60$  Hz), 8.35 (s, 1H, pir), 8.51 (s, 1H, imi), 8.61 (s, 1H, ar); IR: 3398, 1680. Anal ( $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_2$ ) C, H, N.

**44:** R =  $\text{C}_6\text{H}_4$ -3- $\text{NHCOCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ . t: 6 h; la miscela di reazione, portata a temperatura ambiente, è trattata con  $\text{H}_2\text{O}$  (20 mL) ed estratta con AcOEt (3 x 15 mL). La fase organica è anidificata su  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro ed evaporata sotto vuoto, a dare così un solido bianco. Resa: 42%; pf 204-205°C (AcOEt);  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$ : 3.68 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 7.03 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 7.26 (t, 1H, ar,  $J = 6.84$  Hz), 7.33-7.39 (m, 6H, ar), 7.47 (t, 2H, ar,  $J = 7.60$  Hz), 7.60 (t, 2H, ar,  $J = 7.76$  Hz), 7.99 (d, 2H, ar,  $J = 7.52$  Hz), 8.21 (s, 1H, ar), 8.29 (s, 1H, imi), 8.36 (s, 1H, pir), 10.29 (s, 1H, NH); IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 1640, 1955, 3292, 3372. Anal ( $\text{C}_{26}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{O}$ ) C, H, N.

**45:** R = 2-furil. t: 6 h; alla miscela di reazione, portata a temperatura ambiente, è aggiunta  $\text{H}_2\text{O}$  (50 ml); si forma un precipitato marrone che è filtrato e purificato per cromatografia su colonna di silice, eluente  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$  (7:3) per gli eluati di testa, e quindi  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$  (5:5). Dopo evaporazione degli eluati si ottiene un solido bianco. Resa: 50%; pf. 244-246°C (MeOH);  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ ) $\delta$ : 6.61 (m, 1H, fur), 6.8 (m, 1H, fur), 7.1 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 7.35 (t, 1H, ar,  $J = 7.56$  Hz), 7.47 (t, 2H, ar,  $J = 7.56$  Hz), 7.74 (s, 1H, fur), 7.97 (d, 2H, ar,  $J = 8.0$  Hz), 8.16 (s, 1H, ar), 8.38 (s, 1H, ar); IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 1648, 3151, 3308. Anal ( $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}$ ) C, H, N.

### 6-Aril-2-eteroaril-imidazo[1,2-a]pirazin-8-ammine (46, 47)

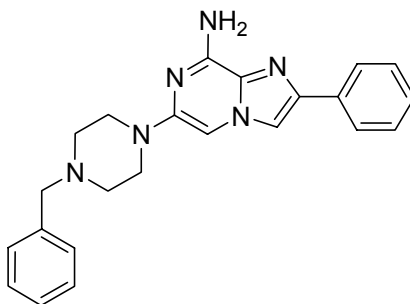


Una miscela costituita dal 6-bromo-derivato **25** (0.72 mmol), tetrakis (0.07 mmol), l'opportuno acido boronico (1.07 mmol) e  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (7.16 mmol) in DME/ $\text{H}_2\text{O}$  (3:1) (15 ml) è riscaldata ad  $85^\circ\text{C}$  in ambiente di gas inerte ( $\text{N}_2$ ) fino a scomparsa del prodotto di partenza (t).

**46:** R =  $\text{C}_6\text{H}_5$ . t: 16 h; alla miscela di reazione, portata a temperatura ambiente, si aggiunge  $\text{H}_2\text{O}$  (15 ml); il precipitato che si forma è filtrato e purificato per cromatografia su colonna di silice, eluente  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  (9:1). Resa: 50%; pf.  $201-202^\circ\text{C}$  (Etere di petrolio/ $\text{Et}_2\text{O}$ )  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ ) $\delta$ : 6.62-6.63 (m, 1H, fur), 6.84-6.86 (m, 1H, fur), 7.09 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 7.36 (t, 1H, ar,  $J = 6.60$  Hz), 7.46 (t, 2H, ar,  $J = 7.44$  Hz), 4.77 (s, 1H, fur), 7.94 (d, 2H, ar,  $J = 7.84$  Hz), 8.13 (s, 1H, pir), 8.40 (s, 1H, imi); IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3309, 3159. Anal ( $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}$ ) C, H, N.

**47:** R = 2-furil. t: 4 h; la miscela di reazione, portata a temperatura ambiente, è trattata con  $\text{H}_2\text{O}$  (20 ml). Il precipitato che si forma viene filtrato e purificato per cromatografia su colonna, eluente  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  (9:1); Resa: 63%; pf.  $256-257^\circ\text{C}$  ( $\text{Et}_2\text{O}$ );  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ ) $\delta$ : 6.58-6.62 (m, 2H, fur), 6.83 (d, 1H, fur,  $J = 3.20$  Hz), 6.82 (d, 1H, fur,  $J = 3.28$  Hz), 7.14 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 7.74 (s, 1H, fur), 7.76 (s, 1H, fur), 8.19 (s, 2H, imi + pir); IR: 3314, 3152. Anal ( $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_2$ ) C, H, N.

### 6-(N-benzilpiperazino)-2-fenil-imidazo[1,2-a]pirazin-8-ammina (48)

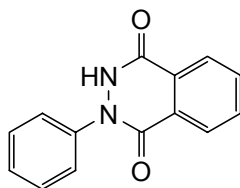


Una miscela costituita dall'8-ammino-derivato **23** (1 mmol), dall'N-benzilpiperazina (1.1 mmol) e  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (1.2 mmol) in DMF dry (2 ml) è sottoposta ad irraggiamento al

microonde, per 5' a 180°C, e poi per 15' a 250°C, con assorbimento very high. La miscela è trattata con H<sub>2</sub>O (40 ml) ed estratta con AcOEt (50 ml). La fase organica è lavata con H<sub>2</sub>O (20 ml × 5), anidrificata su Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ed evaporata sotto vuoto. Si ottiene un solido che viene purificato per cromatografia su colonna di silice, eluente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/AcOEt/MeOH (8:1.5:0.5). Gli eluati centrali vengono raccolti ed evaporati sotto vuoto, ed solido ottenuto è ripreso con Et<sub>2</sub>O e filtrato. Resa: 29%; <sup>1</sup>H-NMR (DMSO)δ: 3.20 (m, 4H, pip), 3.53 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.78 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 7.08 (s, 1H, Pir), 7.30-7.32 (m, 4H, ar), 7.34-7.36 (m, 5H, ar), 7.41-7.45 (m, 3H, ar), 7.91 (d, 2H, ar, J = 7.52 Hz), 8.15 (s, 1H, imi). Anal (C<sub>23</sub>H<sub>24</sub>N<sub>6</sub>) C, H, N.

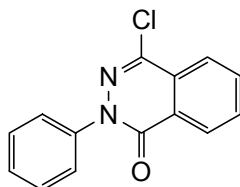
## 1-OXO-2-FENIL-FTALAZINE 49-68 (Serie E)

### 4-Idrossi-2-fenilftalazin-1(2H)-one (118)<sup>[121]</sup>



Una sospensione di fenilidrazina (81.0 mmol) e anidride ftalica (67.5 mmol) in HCl al 10% (100 mL) è scaldata a riflusso per 9 h. Dopo raffreddamento, il solido ottenuto viene filtrato, lavato con H<sub>2</sub>O e Et<sub>2</sub>O (gtt). Resa: 75%; pf 212-213 °C (EtOH) (pf. lett. 213.85 °C)<sup>[121]</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (DMSO)δ: 7.37 (t, 1H, ar, J = 7.13 Hz), 7.50 (t, 2H, ar, J = 7.50 Hz), 7.64 (d, 2H, ar, J = 7.76 Hz), 7.92-8.04 (m, 3H, ar), 8.31 (d, 1H, ar, J = 7.44 Hz), 11.85 (br s, 1H, NH); IR 1642, 3400, 2000. Anal (C<sub>14</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) C, H, N.

### 4-Cloro-2-fenilftalazin-1(2H)-one (119)<sup>[122]</sup>

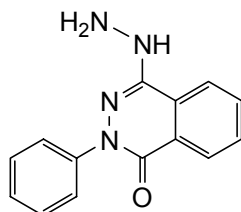


Una soluzione di **118**<sup>[101]</sup> (25.18 mmol) in POCl<sub>3</sub> (6 mL), è scaldata a riflusso per 4 h. Dopo raffreddamento a 0 °C, la soluzione risultante è versata con cautela su una soluzione di NaOH (5M, 100 mL). Si ottiene una sospensione che viene lasciata in



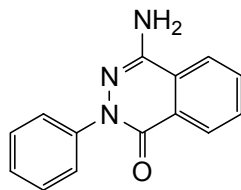
agitazione a r.t. per 2 ore. Si filtra il precipitato, che viene lavato con H<sub>2</sub>O e Et<sub>2</sub>O (gtt). Resa: 65%; pf 130-131 °C (EtOH); (p.f. lett. 130 °C EtOH/H<sub>2</sub>O)<sup>[122]</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (DMSO)δ: 7.45 (t, 1H, ar, J = 7.13 Hz), 7.54 (t, 2H, ar, J = 7.75 Hz), 7.62 (d, 2H, ar, J = 7.72), 8.02-8.13 (m, 3H, ar), 8.38 (d, 1H, ar, J = 7.77 Hz); IR: 1675. Anal (C<sub>14</sub>H<sub>9</sub>ClN<sub>2</sub>O) C, H, N.

#### 4-Idrazino-2-fenilftalizin-1(2H)-one (120)<sup>[122]</sup>



Una soluzione del 4-cloro derivato **119**<sup>[103]</sup> (5.65 mmol), idrazina solfato (11.3 mmol) e un eccesso di idrazina anidra (100%, 2.9 mL) in glicole etilenico (20 mL) è scaldata a 115°C per 1 h. Dopo raffreddamento a temperatura ambiente si aggiunge H<sub>2</sub>O (30 mL) ed il solido risultante viene filtrato. Resa: 63%; p.f. 190-191 °C (glicole etilenico/H<sub>2</sub>O) (p.f. lett. 190 °C)<sup>[122]</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (DMSO)δ: 4.13 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 7.33 (t, 1H, ar, J = 7.28 Hz), 7.47 (t, 2H, ar, J = 7.68 Hz), 7.81 (d, 2H, ar, J = 7.76 Hz), 7.85-7.95 (m, 2H, ar), 8.13 (d, 1H, ar, J = 7.76 Hz), 8.20 (s, 1H, NH), 8.33 (d, 1H, ar, J = 7.52 Hz); IR: 1642, 3354. Anal (C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>N<sub>4</sub>O) C, H, N.

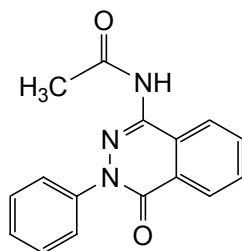
#### 4-Ammino-2-fenilftalazin-1(2H)-one (49)



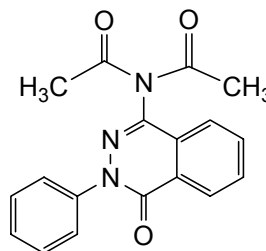
Ad una soluzione dell'idrazino-derivato **120** (5.0 mmol) in EtOH (200 mL) si aggiunge Nickel-Raney (2400, sospensione acquosa al 50%, 24 g). La miscela di reazione è idrogenata nell'apparecchio Parr a 15 psi per 12 h. Dopo eliminazione del catalizzatore per filtrazione, la soluzione etanolica viene evaporata sotto vuoto. Il solido risultante viene ripreso con Et<sub>2</sub>O e filtrato. Resa: 81%; pf 188-200 °C (AcOEt); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO)δ: 6.31 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 7.34 (t, 1H, ar, J = 7.18 Hz), 7.47 (t, 2H, ar, J = 7.75 Hz), 7.64 (d, 2H, ar, J = 7.52 Hz), 7.88 (t, 1H, ar, J = 7.18 Hz), 7.95 (t, 1H, ar, J = 7.54 Hz),

8.15 (d, 1H, ar, J = 7.68 Hz), 8.33 (d, 1H, ar, J = 7.68 Hz); IR: 1625, 3214, 3318, 3422. Anal (C<sub>14</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>O) C, H, N.

**4-Acetilammino-2-fenilftalazin-1(2H)-one (50) e 4-diacetilammino-2-fenilftalazin-1(2H)-one (51)**



**50**



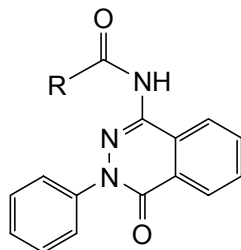
**51**

Una soluzione di acetilcloruro (1.85 mmol) in THF anidro (5 ml) si aggiunge, goccia a goccia, ad una soluzione dell'ammino-derivato **49** (1.68 mmol) in THF anidro (10 ml) e Py anidra (3.3 mmol) raffreddata a 5°C. La miscela di reazione è lasciata a temperatura ambiente per 24 h e poi diluita con AcOEt (70 ml). La soluzione risultante è estratta con H<sub>2</sub>O (50 ml x 3), poi lavata con una soluzione di NaHCO<sub>3</sub> (2.5%, 30 mL) e quindi nuovamente con H<sub>2</sub>O (50 mL). L'evaporazione sotto vuoto della fase organica anidrificata fornisce un solido che viene ripreso con la minima quantità di Et<sub>2</sub>O e filtrato. L'analisi <sup>1</sup>H-NMR conferma la presenza di due composti (**50** e **51**) in rapporto 3:1, che sono separati con cromatografia su colonna di silice, usando come eluente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (9:1). L'evaporazione dei primi eluati fornisce il composto biacilato (**50**), mentre gli eluati centrali contengono il derivato monoacilato (**51**).

**50:** Resa 49%; pf 197-199 °C (2-metossietanolo); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO)δ: 2.16 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 7.43 (t, 1H, ar, J = 6.96 Hz), 7.53 (t, 2H, ar, J = 7.74 Hz), 7.62 (d, 2H, ar, J = 7.96 Hz), 7.86 (d, 1H, ar, J = 7.76 Hz), 7.92-8.01 (m, 2H, ar), 8.35 (d, 1H, ar, J = 7.68 Hz), 10.35 (s, 1H, NH); IR: 1672, 3248. Anal (C<sub>16</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>) C, H, N.

**51:** Resa 15%; pf 185-186 °C (2-metossietanolol); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO)δ: 2.38 (s, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 7.45 (t, 1H, ar, J = 7.36 Hz), 7.54 (t, 2H, ar, J = 7.72 Hz), 7.63 (d, 2H, ar, J = 7.72 Hz), 7.92 (d, 1H, ar, J = 7.12 Hz), 7.98 (m, 2H, ar), 8.42 (d, 1H, ar, J = 7.12 Hz); IR: 1673, 1697, 1729. Anal (C<sub>18</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>) C, H, N.

#### 4-Aroilammino-2-fenilftalizin-1(2H)-one (52-56)



Una soluzione dell'opportuno aroil-cloruro (6.33 mmol) in THF anidro (5 mL) è addizionato, goccia a goccia in 30', ad una soluzione, mantenuta a 5°C, di 4-ammino-derivato **49** (2.11 mmol) in THF anidro (20 ml) e Py anidra (21.1 mmol). La miscela di reazione è lasciata a temperatura ambiente fino alla scomparsa del prodotto di partenza (monitoraggio TLC 15-72 h). La sospensione risultante è diluita con H<sub>2</sub>O (50 ml) ed estratta con AcOEt (70 ml). La fase organica è lavata con H<sub>2</sub>O (50 ml x 2), con una soluzione di NaHCO<sub>3</sub> (2.5%, 50 mL) e nuovamente con H<sub>2</sub>O (50 ml). Dopo evaporazione sotto vuoto della soluzione di AcOEt (anidrificata) viene ottenuto un solido che è ripreso con poco Et<sub>2</sub>O e filtrato. Mentre i composti **54-56** sono purificati per cristallizzazione, il prodotto **53** è purificato per cromatografia su colonna di silice, eluente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/AcOEt (8:2) e ricristallizzato successivamente. Per quanto riguarda invece il composto **52**, la miscela di reazione è direttamente filtrata e il solido risultante è lavato con H<sub>2</sub>O e ricristallizzato.

**52:** R = C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>. Resa: 39%; pf 201-202 °C (EtOH); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO)δ: 7.44 (t, 1H, ar, J = 7.34 Hz), 7.52-7.60 (m, 4H, ar), 7.63-7.68 (m, 3H, ar), 7.85 (d, 1H, ar, J = 8.64 Hz) 7.95-8.02 (m, 2H, ar), 8.07 (d, 2H, ar, J = 7.40 Hz), 8.39 (d, 1H, ar, J = 7.12 Hz); 10.91 (s, 1H, NH); IR: 1651, 1670. Anal (C<sub>21</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>) C, H, N.

**53:** R = 4-ClC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>. Resa: 27%; pf 190-191 °C (2-metossietanolo); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO)δ: 7.44 (t, 1H, ar, J = 6.96 Hz), 7.54 (t, 2H, ar, J = 8.62 Hz), 7.63-7.68 (m, 4H, ar), 7.85 (d, 1H, ar, J = 7.44 Hz) 7.98 (m, 2H, ar), 8.08 (d, 2H, ar, J = 8.56 Hz), 8.39 (d, 1H, ar, J = 7.44 Hz); 11.00 (s, 1H, NH); IR: 1671, 3072. Anal (C<sub>21</sub>H<sub>14</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>2</sub>) C, H, N.

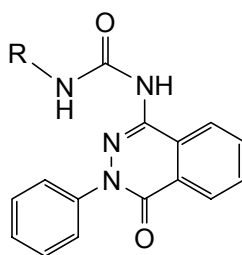
**54:** R = 4-CH<sub>3</sub>OC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>. Resa: 55%; pf 203-204 °C (EtOH); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO)δ: 3.87 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 7.10 (d, 2H, ar, J = 8.88 Hz), 7.44 (t, 1H, ar, J = 7.34 Hz), 7.54 (t, 2H, ar, J = 7.74 Hz), 7.64 (d, 2H, ar, J = 8.12 Hz), 7.80 (d, 1H, ar, J = 8.88 Hz) 7.94-8.01 (m, 2H,

ar), 8.05 (d, 2H, ar,  $J = 8.88$  Hz), 8.39 (d, 1H, ar,  $J = 8.88$  Hz); 10.74 (s, 1H, NH). ; IR: 1670, 3068. Anal ( $C_{22}H_{17}N_3O_3$ ) C, H, N.

**55:** R = 2-furil. Resa: 71%; pf 193-194 °C (MeOH);  $^1H$ -NMR (DMSO) $\delta$ : 6.75 (d, 1H, ar,  $J = 3.36$  Hz), 7.42-7.45 (m, 2H, ar), 7.54 (t, 2H, ar,  $J = 7.66$  Hz), 7.64 (d, 2H, ar,  $J = 8.32$  Hz), 7.83 (d, 1H, ar,  $J = 7.72$  Hz), 7.95-8.01 (m, 3H, ar), 8.39 (d, 1H, ar,  $J = 7.28$  Hz), 10.83 (s, 1H, NH). ; IR: 1659. Anal ( $C_{19}H_{13}N_3O_3$ ) C, H, N.

**56:** R =  $CH_2C_6H_5$ . Resa: 40%; pf 194-195 °C (MeOH);  $^1H$ -NMR (DMSO) $\delta$ : 3.80 (s, 2H,  $CH_2$ ), 7.26-7.29 (m, 1H, ar), 7.33-7.45 (m, 5H, ar), 7.53 (t, 2H, ar,  $J = 7.66$  Hz), 7.61 (d, 2H, ar,  $J = 7.64$  Hz), 7.72 (d, 1H, ar,  $J = 7.44$  Hz), 7.91-7.97 (m, 2H, ar), 8.34 (d, 1H, ar,  $J = 7.44$  Hz), 10.58 (s, 1H, NH). ; IR: 1650, 1666, 3242. Anal ( $C_{22}H_{17}N_3O_2$ ) C, H, N.

**4-Arilureido-2-fenilftalazin-1(2H)-one (57-61, 63-64) e 4-aralchilureido-2-fenilftalazin-1(2H)-one (67-68)**



Ad una soluzione di ammino derivato **49** (1.3 mmol) in  $CH_2Cl_2$  (4 ml) è aggiunto, goccia a goccia, una quantità equimolare dell'opportuno aril o aralchil isocianato in  $CH_2Cl_2$  anidro (4 ml). La miscela di reazione è lasciata a r.t. per 2-15 giorni. Mentre per i composti **57**, **58**, **59**, **61**, e **67** la miscela di reazione è mantenuta a r.t., i prodotti **60**, **63**, **64** e **68**, sono stati ottenuti riscaldando la reazione a 50°C. Nuove aggiunte dell'opportuno isocianato (0.5-1 equivalenti) vengono effettuate quando, dopo 48 h dall'inizio della reazione, è ancora presente prodotto di partenza (monitoraggio TLC). La sospensione risultante è filtrata ed il solido ottenuto è ridisciolti in una miscela di CHX/AcOEt (3:7) (80 ml). La miscela ottenuta è mantenuta in agitazione per 4 h. Il solido grezzo che si forma è filtrato e lavato varie volte con CHX/AcOEt (3:7) e cristallizzato infine con 2-metossietanolo. Non è possibile effettuare una cristallizzazione del composto **58**, che risulta instabile dopo riscaldamento in DMF; **58**

viene perciò purificato tramite un lavaggio a caldo con EtOH. L'analisi  $^1\text{H-NMR}$  ed il punto di fusione mostrano che il prodotto grezzo **58** è sufficientemente puro per essere testato negli studi di binding.

**57:**  $\text{R} = \text{C}_6\text{H}_5$ . Resa: 40%; pf  $> 300\text{ }^\circ\text{C}$ ;  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO) $\delta$ : 7.00 (t, 1H, ar,  $J = 7.20\text{ Hz}$ ), 7.29 (t, 2H, ar,  $J = 7.08\text{ Hz}$ ), 7.43-7.47 (m, 3H, ar), 7.54 (t, 2H, ar,  $J = 7.22\text{ Hz}$ ), 7.70 (d, 2H, ar,  $J = 7.48\text{ Hz}$ ), 7.96-8.02 (m, 2H, ar), 8.16 (d, 1H, ar,  $J = 7.56\text{ Hz}$ ); 8.38 (d, 1H, ar,  $J = 7.52\text{ Hz}$ ), 9.55 (br s, 1H, NH), 9.83 (br s, 1H, NH); IR: 1672, 1697, 3360, 3420, 3495, 3522, 3564. Anal ( $\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_2$ ) C, H, N.

**58:**  $\text{R} = 4\text{-ClC}_6\text{H}_4$ . Resa 76%; pf  $262\text{-}264\text{ }^\circ\text{C}$  (grezzo);  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO) $\delta$ : 7.35 (d, 2H, ar,  $J = 8.72\text{ Hz}$ ), 7.42 (t, 1H, ar,  $J = 7.34\text{ Hz}$ ), 7.49-7.55 (m, 4H, ar), 7.69 (d, 2H, ar,  $J = 7.48\text{ Hz}$ ), 7.95-8.04 (m, 2H, ar), 8.12 (d, 1H, ar,  $J = 7.91\text{ Hz}$ ); 8.40 (d, 1H, ar,  $J = 7.68\text{ Hz}$ ), 9.34 (s, 1H, NH), 9.63 (s, 1H, NH); IR: 1677, 1698, 3067, 3272. Anal ( $\text{C}_{21}\text{H}_{15}\text{ClN}_4\text{O}_2$ ) C, H, N.

**59:**  $\text{R} = 2\text{-ClC}_6\text{H}_4$ . Resa 49%; pf  $251\text{-}252\text{ }^\circ\text{C}$ ;  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO) $\delta$ : 7.04 (t, 1H, ar,  $J = 8.34\text{ Hz}$ ), 7.30 (t, 1H, ar,  $J = 7.78\text{ Hz}$ ), 7.38 (d, 1H, ar,  $J = 7.96\text{ Hz}$ ), 7.44-7.57 (m, 1H, ar), 7.54 (t, 2H, ar,  $J = 7.60\text{ Hz}$ ), 7.62 (d, 2H, ar,  $J = 7.48\text{ Hz}$ ), 7.97-8.06 (m, 2H, ar), 8.22 (d, 1H, ar,  $J = 8.28\text{ Hz}$ ); 8.34-8.40 (m, 2H, ar), 9.87 (s, 1H, NH), 9.91 (s, 1H, NH); IR: 1663, 1680, 3152, 3277. Anal ( $\text{C}_{21}\text{H}_{15}\text{ClN}_4\text{O}_2$ ) C, H, N.

**60:**  $\text{R} = 4\text{-CH}_3\text{OC}_6\text{H}_4$ . Resa 45%; pf  $259\text{-}260\text{ }^\circ\text{C}$ ;  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO) $\delta$ : 3.72 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 6.88 (d, 2H, ar,  $J = 7.52\text{ Hz}$ ), 7.35 (d, 2H, ar,  $J = 7.56\text{ Hz}$ ), 7.43 (t, 1H, ar,  $J = 7.34\text{ Hz}$ ), 7.54 (t, 2H, ar,  $J = 7.16\text{ Hz}$ ), 7.70 (d, 2H, ar,  $J = 7.92\text{ Hz}$ ), 7.94-8.04 (m, 2H, ar), 8.19 (d, 1H, ar,  $J = 7.96\text{ Hz}$ ), 8.39 (d, 1H, ar,  $J = 7.76\text{ Hz}$ ); 9.25 (s, 1H, NH), 9.50 (s, 1H, NH); IR: 1655, 1682, 3097, 3143, 3193, 3270. Anal ( $\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_3$ ) C, H, N.

**61:**  $\text{R} = 3\text{-CH}_3\text{OC}_6\text{H}_4$ . Resa 64%; pf  $244\text{-}246\text{ }^\circ\text{C}$ ;  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO) $\delta$ : 3.34 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 6.59 (d, 1H, ar,  $J = 8.24\text{ Hz}$ ), 6.99 (d, 1H, ar,  $J = 8.12\text{ Hz}$ ), 7.11 (s, 1H, ar), 7.19 (t, 1H, ar,  $J = 8.14\text{ Hz}$ ), 7.43 (t, 1H, ar,  $J = 7.38\text{ Hz}$ ), 7.54 (t, 2H, ar,  $J = 7.64\text{ Hz}$ ), 7.71 (d, 2H, ar,  $J = 8.32\text{ Hz}$ ), 7.95-8.04 (m, 2H, ar), 8.17 (d, 1H, ar,  $J = 7.88\text{ Hz}$ ); 8.39 (d, 1H, ar,  $J = 7.84\text{ Hz}$ ), 9.29 (s, 1H, NH), 9.63 (s, 1H, NH); IR: 1668, 1694, 3098, 3143, 3201, 3270. Anal ( $\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_3$ ) C, H, N.

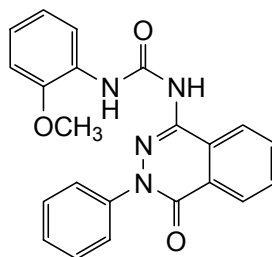
**63:** R = 4-CH<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>. Resa 46%; pf 261-263 °C; <sup>1</sup>H-NMR (DMSO)δ: 2.25 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 7.10 (d, 2H, ar, J = 8.20 Hz), 7.33 (d, 2H, ar, J = 8.36 Hz), 7.43 (t, 1H, ar, J = 7.38 Hz), 7.54 (t, 2H, ar, J = 7.72 Hz), 7.70 (d, 2H, ar, J = 8.12 Hz), 7.94-8.04 (m, 2H, ar), 8.18 (d, 1H, ar, J = 7.88 Hz), 8.39 (d, 1H, ar, J = 7.84 Hz); 9.26 (s, 1H, NH), 9.54 (s, 1H, NH). ; IR: 1667, 1688, 3191. Anal (C<sub>22</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>) C, H, N.

**64:** R = 2-CH<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>. Resa 51%; pf 247-249 °C; <sup>1</sup>H-NMR (DMSO)δ: 1.86 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 6.96 (t, 1H, ar, J = 7.36 Hz), 7.11-7.17 (m, 2H), 7.45 (t, 1H, ar, J = 7.32 Hz), 7.54 (t, 2H, ar, J = 7.68 Hz), 7.65 (d, 2H, ar, J = 7.76 Hz), 7.87 (d, 1H, ar, J = 7.96 Hz), 7.96-8.06 (m, 2H, ar), 8.34 (d, 1H, ar, J = 7.92 Hz), 8.39 (d, 1H, ar, J = 7.24 Hz), 9.39 (s, 1H, NH), 9.60 (s, 1H, NH). ; IR: 1659, 1681, 3136, 3190. Anal (C<sub>22</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>) C, H, N.

**67:** R = CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>. Resa 41%; pf 218-219 °C; <sup>1</sup>H-NMR (DMSO)δ: 4.36 (d, 2H, CH<sub>2</sub>, J = 5.68 Hz), 7.24-7.33 (m, 5H, ar), 7.37-7.40 (m, 1H, ar); 7.45 (t, 2H, ar, J = 7.54 Hz), 7.59 (d, 2H, ar, J = 7.64 Hz), 7.85 (t, 1H, NH, J = 5.54 Hz), 7.92-8.02 (m, 2H, ar), 8.20 (d, 1H, ar, J = 7.76 Hz), 8.36 (d, 1H, ar, J = 7.20 Hz), 9.23 (s, 1H, NH); IR: 1678, 3140, 3258. Anal (C<sub>22</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>) C, H, N.

**68:** R = CH<sub>2</sub>-2CH<sub>3</sub>OC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>. Resa 48%; pf 244-246 °C; <sup>1</sup>H-NMR (DMSO)δ: 3.66 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>, J = 5.68 Hz), 4.31 (d, 2H, CH<sub>2</sub>, J = 5.28 Hz), 6.86 (t, 1H, ar, J = 7.44 Hz), 6.96 (d, 1H, ar, J = 8.24 Hz); 7.17-7.27 (m, 2H, ar), 7.38-7.42 (m, 1H, ar), 7.47 (t, 2H, ar, J = 7.66 Hz), 7.60 (d, 2H, ar, J = 7.68 Hz), 7.83 (br s, 1H, NH), 7.92-8.01 (m, 2H, ar), 8.24 (d, 1H, ar, J = 8.04 Hz), 8.36 (d, 1H, ar, J = 7.08 Hz), 9.35 (s, 1H, NH); IR: 1657, 1673, 3314. Anal (C<sub>23</sub>H<sub>20</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>) C, H, N.

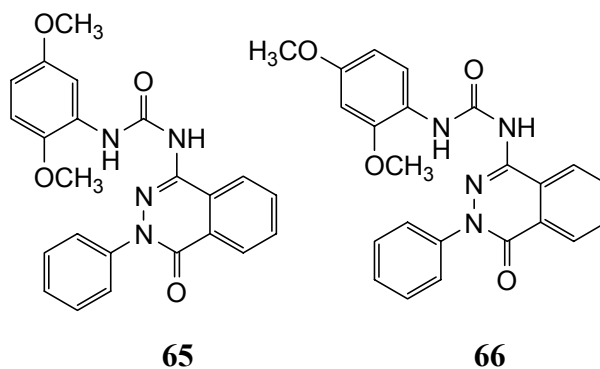
#### 4-(2-Metossifenil)ureido-2-fenilftalazin-1(2H)-one (62)



Una miscela di **49** (2.11 mmol) e 2-metossi-fenil-isocianato (3.16 mmol) in THF anidro (30 mL) è scaldata a 50 °C in ambiente di gas inerte (N<sub>2</sub>) per 30 h. Dopo 12 h, nuove aggiunte di isocianato (0.3 mmol x 6) a intervalli di 3 h vengono effettuate alla miscela

di reazione. La sospensione risultante è filtrata e il solido ottenuto è ridisciolto in una miscela di CHX/AcOEt 3:7 (80 mL) e lasciato in agitazione per 4 h. Il prodotto grezzo viene filtrato e lavato più volte con CHX/AcOEt (3:7). Resa 40%; pf 267-268 °C (2-metossietanolo);  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO) $\delta$ : 3.34 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 6.88-7.00 (m, 3H, ar), 7.45 (t, 1H, ar, J = 7.13 Hz), 7.56 (t, 2H, ar, J = 7.38 Hz), 7.69 (d, 2H, ar, J = 7.84 Hz), 7.96-8.05 (m, 2H, ar), 8.15 (d, 1H, ar, J = 7.80 Hz), 8.35-8.40 (m, 2H, ar), 9.71 (s, 1H, NH), 9.90 (s, 1H, NH); IR: 1655, 1681, 3186. Anal (C<sub>22</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>) C, H, N.

**4-(2,4-Dimetossifenilureido)- (65) e 4-(2,5-dimetossifenilureido)-2-fenilftalizin-1(2H)-one (66)**



Una miscela di **49** (0.63 mmol) ed una quantità equimolare dell'opportuno dimetossifenil-isocianato in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro (7 ml) è lasciata in agitazione in ambiente di gas inerte (N<sub>2</sub>) per 12 giorni. La sospensione è quindi scaldata a 40-45°C e nuove aggiunte di isocianato (0.31 mmol x 5), a intervalli di tre giorni, sono effettuate alla miscela di reazione. Il riscaldamento è mantenuto per 18 giorni. La sospensione è quindi filtrata e il solido risultante viene ripreso con poco CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, filtrato e cristallizzato con 2-metossietanolo.

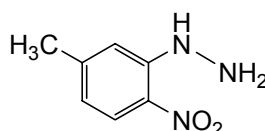
**65**: Resa 34%; pf: 294-296 °C;  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO) $\delta$ : 3.32 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.68 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 6.53 (dd, 1H, ar, J = 8.92, 3.04), 6.84 (d, 1H, ar, J = 8.92 Hz), 7.45 (t, 1H, ar, J = 7.36 Hz), 7.55 (t, 2H, ar, J = 7.76 Hz), 7.68 (d, 2H, ar, J = 8.12 Hz), 7.85 (s, 1H, ar), 7.95-8.05 (m, 2H, ar), 8.32 (d, 1H, ar, J = 7.80 Hz), 8.39 (d, 1H, ar, J = 7.88 Hz), 9.72 (s, 1H, NH), 9.79 (s, 1H, NH); IR: 1657, 1681, 3285. Anal (C<sub>23</sub>H<sub>20</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>) C, H, N.

**66**: Resa 42%; pf 257-259 °C;  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO) $\delta$ : 3.34 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.72 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 6.48 (dd, 1H, ar, J = 8.84, 2.68), 6.53 (s, 1H, ar), 7.45 (t, 1H, ar, J = 7.36 Hz),

7.56 (t, 2H, ar, J = 7.76 Hz), 7.68 (d, 2H, ar, J = 8.20 Hz), 7.95-8.05 (m, 3H, ar), 8.36-8.40 (m, 2H, ar), 9.60 (s, 1H, NH), 9.75 (s, 1H, NH); IR: 1660, 3061, 3139, 3186, 3266. Anal (C<sub>23</sub>H<sub>20</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>) C, H, N.

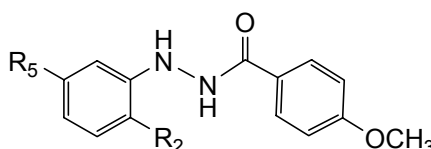
## 1,2,4-TRIAZOLO[4,3-a]CHINOSSALINE 69-73 (Serie F) E DEGLI ANALOGHI DI SEMPLIFICAZIONE MOLECOLARE 74-77 (Serie G) e 78-81 (Serie H)

### 5-metil-2-nitro-fenilidrazina (141)<sup>[123]</sup>



Ad una sospensione del 3,4-dinitrotoluene commerciale (0,12 mol) in EtOH (140 ml) viene aggiunta goccia a goccia l'idrazina monoidrata (0,76 mol) in etanolo (100 ml). Dopo 5 ore si filtra il precipitato color arancio formatosi. Resa: 55%; p.f.: 129-131°C (CHX)<sup>[123]</sup>. Anal (C<sub>7</sub>H<sub>9</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>) C, H, N.

### N2-(4-metossibenzoil)idrazide (137 e 142)<sup>[110,124]</sup>



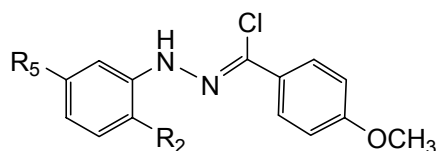
Ad una soluzione dell'opportuna idrazina (5,98 mmol) in Py anidra (18,3 ml) si aggiunge, goccia a goccia, il p-anisoilcloruro (5,98 mmol) in Py anidra (3 ml). La soluzione è scaldata a riflusso fino a scomparsa del prodotto di partenza (monitoraggio TLC) La piridina è rimossa per distillazione sottovuoto, e il residuo ottenuto è ripreso con HCl 2M (8 ml). L'insolubile presente è filtrato e lavato con H<sub>2</sub>O, Et<sub>2</sub>O ed etere di petrolio.

**137:** R<sub>2</sub> = H; R<sub>5</sub> = H. t = 5h; Resa: 91%; p.f.: 165-167°C (CHX/AcOEt)<sup>[110]</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (DMSO)δ: 3.83 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 6.71 (t, 1H, ar, J = 7.24 Hz), 6.77 (d, 2H, ar, J = 7.76 Hz), 7.04 (d, 2H, ar, J = 8.52 Hz), 7.15 (t, 2H, ar, J = 7.60 Hz), 7.91 (d, 2H, ar, J = 8.52 Hz), 10.22 (s, 1H, NH); IR: 3264, 1335, 1174. Anal (C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) C, H, N.



**142:**  $R_2 = \text{NO}_2$ ;  $R_5 = \text{CH}_3$ .  $t = 1\text{h}$ ; Resa: 89%; p.f.: 182-184°C (EtOH)<sup>[123]</sup>. Anal ( $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_4$ ) C, H, N.

**N2- $\alpha$ -cloro-(4metossibenziliden)-idrazone (138 e 143)<sup>[123]</sup>**

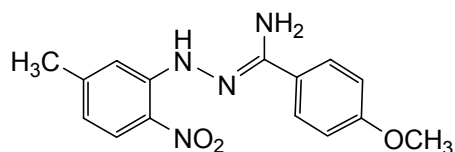


Una sospensione dell'opportuna idrazide (**137 o 142**) (4,31 mmol) in  $\text{POCl}_3$  (11.8 ml) è scaldata a riflusso fino a scomparsa del prodotto di partenza. L'eccesso di  $\text{POCl}_3$  viene rimosso per distillazione a pressione ridotta, mentre le ultime tracce del reattivo clorurante vengono eliminate per aggiunta di CHX (25 ml) e successiva distillazione del solvente sottovuoto.

**138:**  $R_2 = \text{H}$ ;  $R_5 = \text{H}$ . Resa: 96%; olio;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ : 3.89 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 6.98 (d, 2H, ar,  $J = 6.88$  Hz), 7.38-7.47 (m, 5H, ar), 8.06 (d, 2H, ar,  $J = 8.84$  Hz). Anal ( $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}$ ) C, H, N.

**143:**  $R_2 = \text{NO}_2$ ;  $R_5 = \text{CH}_3$ . Resa: 53%; p.f.: 125-126°C ( $\text{CHX}/\text{AcOEt}$ )<sup>[123]</sup>. Anal ( $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{N}_3\text{O}_3$ ) C, H, N.

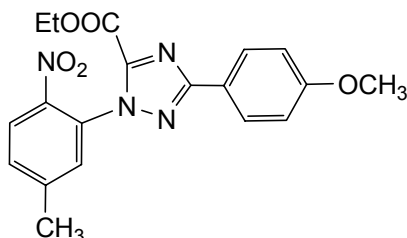
**N1-(5-metil-2-nitrofenil)-N2-(4-metossifenil)-amidrazone (133)<sup>[123]</sup>**



In una soluzione del cloro-derivato **143** (1,69 mmol) in diossano anidro (20 ml) è fatta gorgogliare ammoniac gassosa fino a saturazione (per circa 40'). La sospensione ottenuta viene diluita con acqua (30 ml) ed il precipitato rosso scuro ottenuto viene filtrato. Resa: 81%; p.f.: 130-132°C; ( $\text{EtOH}/\text{H}_2\text{O}$ )<sup>[123]</sup>. Anal ( $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_3$ ) C, H, N.

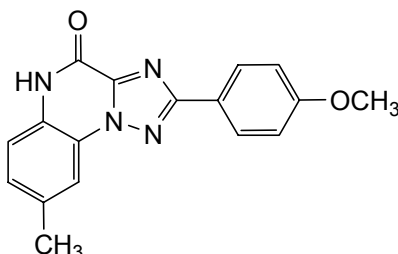
## SINTESI DI 131 E 132 (VIA A)

### 1-(2-nitro-5-metilfenil)-3-(4-metossifenil)-1,2,4-triazolo-5-carbossilato di etile (144)



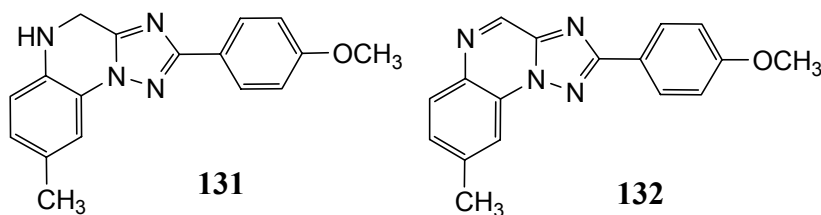
Ad una soluzione di etilossalilcloruro (2,97 mmol) in toluene anidro (6 ml) mantenuta a 80°C è aggiunto a piccole porzioni l'amidrazone **133** (0,94 mmol). Terminata l'aggiunta, la miscela di reazione è portata a riflesso per 2.5 h. Il solvente viene distillato sottovuoto e l'olio fluido ottenuto è trattato con poche gocce di AcOEt fino a comparsa di un precipitato giallo che viene filtrato e lavato con poco AcOEt. Resa: 48%; p.f. 160-162°C (toluene). Anal (C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>) C, H, N.

### 8-metil-4,5-diidro-2-(4-metossifenil)-1,2,4-triazolo[1,5-a]-chinossalin-4-one (130)



Ad una sospensione del 2-nitrofenil-triazolo **144** (1 mmol) in CH<sub>3</sub>COOH (6 ml) si aggiunge ferro in polvere (1.0 g). La miscela di reazione è scaldata a 90°C per 16 h (monitoraggio TLC). Il solvente viene rimosso per distillazione sottovuoto ed il precipitato ottenuto è sospeso in acqua (46 ml). La sospensione che si forma viene portata a pH acido con HCl 6N fino a decolorazione e l'insolubile presente è filtrato ed estratto in Soxhlet con acetone (250 ml). Resa: 13%; p.f.: >300°C; (acetone). Anal (C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>) C, H, N.

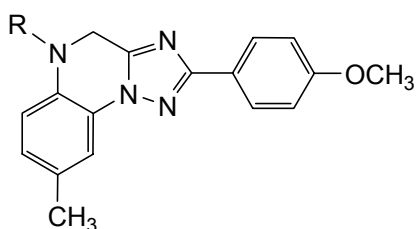
**4,5-diidro-8-metil-2-(4-metossifenil)[1,2,4]-triazolo[1,5-a]chinossalina (131) e 8-metil-2-(4-metossifenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]chinossalina (132)**



Ad una sospensione del 4-oxo-derivato **130** (1,31mmol) in THF anidro (40 ml) mantenuto a riflusso ed in atmosfera di azoto, si aggiunge a piccole porzioni un eccesso di  $\text{LiAlH}_4$  (10,48 mmol). La miscela è riscaldata a riflusso per 30 minuti. L'eccesso di idruro viene spento con ghiaccio (80 g), e la sospensione ottenuta è estratta con AcOEt (40 ml). La fase organica viene lavata con acqua (20ml x 2), seccata su  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro ed evaporata. Si ottiene un solido costituito dalla miscela dei due prodotti **131** e **132** che viene impiegata come tale per il passaggio successivo. Resa 79% sul grezzo.

Del 4,5-deidroderivato **131**, per la sua caratterizzazione, viene effettuata una cromatografia su colonna di silice, eluente  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CHX}/\text{AcOEt}$  (9:0.5:0.5). Resa: 30%; p.f.: 180-182°C (CHX);  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO) $\delta$ : 2,65 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3,87 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 7,16 (d, 2H, ar,  $J = 8,59$  Hz), 7,64 (d, 1H, ar,  $J = 8,16$  Hz), 8,13 (d, 1H, ar,  $J = 8,24$  Hz), 8,25 (d, 2H, ar,  $J = 8,56$  Hz), 8,32 (s, 1H, ar), 9,38 (s, 1H, CH). Anal ( $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}$ ) C, H, N.

**5-R-4,5-diidro-8-metil-2-(4-metossifenil)-1,2,4-triazolo[1,5-a]chinossaline (69-73)**



Ad una soluzione della miscela costituita dai derivati **131** e **132** (1,2 mmol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anidro (36 ml) e Pya anidra (0,05 ml) mantenuta in atmosfera di azoto e immersa in bagno a ghiaccio e sale (0°C), viene aggiunta, goccia a goccia, una soluzione dell'opportuno cloruro acido (3,6 mmol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anidro (3,6 ml). Dopo 30 minuti il solvente viene evaporato ed il solido ottenuto viene lavato con  $\text{H}_2\text{O}$  (30 ml) per

allontanare il cloruro di piridinio formatosi. Il prodotto desiderato (**69-73**) viene purificato per cromatografia su colonna di silice, utilizzando l'opportuno eluente.

**69:** R= COOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>. p.f. 141-142°C (CHX); eluente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CHX/AcOEt (9:0.5:0.5); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO)δ: 1,26 (t, 3H, CH<sub>3</sub>, J = 7,08 Hz), 2,42 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3,84 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4,19 (q, 2H, CH<sub>2</sub>, J = 7,08 Hz), 5,17 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 7,08 (d, 2H, ar, J = 8,76 Hz), 7,19 (d, 1H, ar, J = 8,40 Hz), 7,65 (d, 1H, ar, J = 7,40 Hz), 7,68 (s, 1H, ar), 8,03 (d, 2H, ar, J = 8,76 Hz); IR: 1708. Anal (C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>) C, H, N.

**70:** R= COCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>. p.f. 132-133°C (CHX); eluente CHX/AcOEt/MeOH (9.2.1); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO)δ: 1,00 (t, 3H, CH<sub>3</sub>, J = 6,64 Hz), 2,44 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3,53 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 5,20 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 7,08 (d, 2H, ar, J = 8,52 Hz), 7,63 (d, 1H, ar, J = 7,60 Hz), 7,68 (s, 1H, ar), 8,03 (d, 2H, ar, J = 8,34 Hz). Anal (C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>) C, H, N.

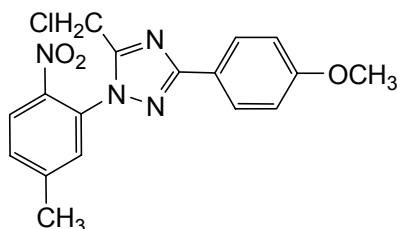
**71:** R= COOCH<sub>2</sub>C≡CH. p.f.: 134-135°C (CHX); eluente CHX/AcOEt (6:4); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO)δ: 2,42 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3,63 (s, 1H, CCH), 3,84 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4,84 (s, 2H, OCH<sub>2</sub>), 5,18 (s, 2H, NCH<sub>2</sub>), 7,09 (d, 2H, ar, J = 8,40 Hz), 7,21 (d, 1H, ar, J = 7,68 Hz), 7,62 (d, 1H, ar, J = 7,68 Hz), 7,68 (s, 1H, ar), 8,04 (d, 2H, ar, J = 8,48 Hz); IR: 3260, 1721. Anal (C<sub>21</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>) C, H, N.

**72:** R= COCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>. p.f.: 188-190°C (CHX); eluente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/acetone (9:1); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO)δ: 2,44 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3,84 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3,96 (s, 2H, COCH<sub>2</sub>), 5,22 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 7,08 (d, 2H, ar, J = 7,12 Hz), 7,13-7,23 (m, 5H, ar), 7,66 (s, 1H, ar), 7,69 (d, 1H, ar, J = 8,20 Hz), 8,03 (d, 2H, ar, J = 7,04 Hz); IR: 1662. Anal (C<sub>25</sub>H<sub>22</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>) C, H, N.

**73:** R= COOCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>. p.f.: 119-120°C (CHX); eluente CHX/AcOEt (6:4); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO)δ: 2,40 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3,83 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 5,19 (s, 2H, OCH<sub>2</sub>), 5,23 (s, 2H, NCH<sub>2</sub>), 7,10 (d, 2H, ar, J = 8,61 Hz), 7,17 (d, 1H, ar, J = 8,24 Hz), 7,35-7,45 (m, 5H, ar), 7,66 (s, 2H, ar), 8,03 (d, 2H, ar, J = 8,60 Hz); IR: (cm<sup>-1</sup>): 1722. Anal (C<sub>25</sub>H<sub>22</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>) C, H, N.

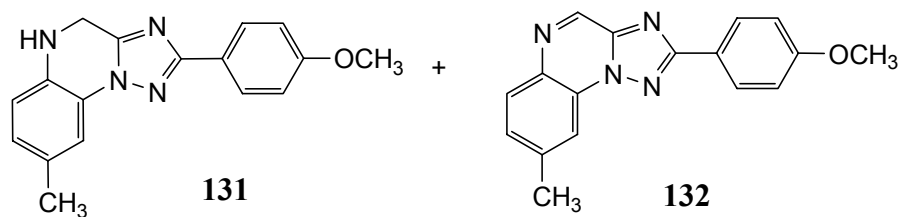
## SINTESI DI 131 E 132 (VIA B)

### 1-(5-metil-2-nitrofenil)-3-(4-metossifenil)-1,2,4-triazolo-5-clorometile (145)



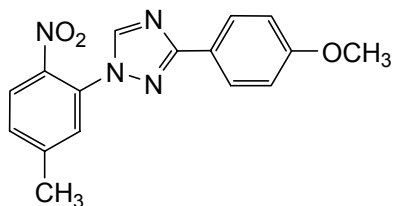
Ad una soluzione di cloro-acetilcloruro (3,4 mmol) in toluene anidro (15 ml) a 80°C è aggiunto a piccole porzioni l'amidrazone **133**. Terminata l'aggiunta, la miscela di reazione è portata a riflusso per 3 h. Il solvente viene distillato sottovuoto e l'olio che si forma viene ripreso con una miscela di etere di petrolio e AcOEt. Il precipitato ottenuto viene filtrato. Resa: 72%; p.f.: 127-128°C (EtOH); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO)δ: 2,51 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3,82 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4,95 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 7,07 (d, 2H, ar, J = 8,88 Hz), 7,72(d, 1H, ar, J = 8,32 Hz), 7,81(s, 1H, ar), 7,93 (d, 2H, ar, J = 8,88 Hz), 8,23 (d, 1H, ar, J = 8,40 Hz). Anal (C<sub>17</sub>H<sub>15</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>Cl) C, H, N.

### 4,5-diidro-8-metil-2-(4-metossifenil)[1,2,4]-triazolo[1,5-a]chinossalina (**131**) e 8-metil-2-(4-metossifenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]chinossalina (**132**)



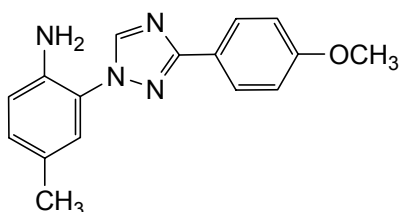
Ad una soluzione del 5-clorometilderivato **134** (1,59 mmol) in EtOH (75 ml) si aggiunge un eccesso di cloruro di stagno diidrato (4,77 mmol) e si scalda a riflusso per 40 h. Il solvente è allontanato per distillazione sotto vuoto ed il solido così ottenuto è ripreso con Et<sub>2</sub>O, filtrato e quindi lavato con abbondante acqua. La miscela di prodotti **131** e **132** ottenuta (rapporto 2:1, dosaggio NMR) è impiegata come tale per il passaggio successivo. Resa: 83%.

**1-(5-metil-2-nitrofenil)-3-(4-metossifenil)-1,2,4-triazolo (135)**



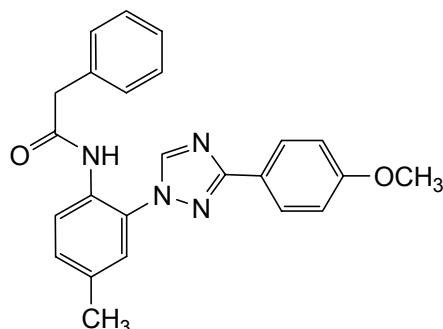
A una sospensione dell'amidrazone **133** (1 mmol) in ortoformiato di etile (1,25 ml) viene aggiunto acido p-toluensolfonico (10 mg). La miscela di reazione è scaldata a 100°C per 30 minuti. Per raffreddamento della soluzione precipita un composto arancio che viene filtrato. Resa: 75%; <sup>1</sup>H-NMR (DMSO)δ: 2,50 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3,82 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 7,06 (d, 2H, ar, J = 8,76 Hz), 7,60 (d, 1H, ar, J = 8,36 Hz), 7,80 (s, 1H, ar), 7,94 (d, 2H, ar, J = 8,70 Hz), 8,09 (d, 1H, ar, J = 8,36 Hz), 9,09 (s, 1H, CH). Anal (C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>) C, H, N.

**2-[3-(4-metossifenil)-1,2,4-triazol-1-il]-4-metil-fenilalanina (136)**



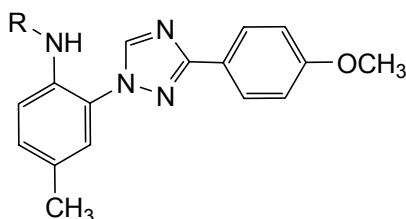
Ad una soluzione del 2-nitrofeniltriazolo **135** (2mmol) in AcOEt (50 ml) si aggiunge il catalizzatore Pd/C al 10% (10% in peso). La soluzione è collegata all'idrogenatore fino a scomparsa del prodotto di partenza (monitoraggio TLC). Il catalizzatore viene filtrato e il solvente è allontanato per distillazione sottovuoto a dare un solido carnacino. Resa: 69%; p.f.: 131-132°C (EtOH); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO)δ: 2,22 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3,82 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 5,31 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 6,84 (d, 2H, ar, J = 8,24 Hz), 7,02 (d, 1H, ar, J = 8,20 Hz), 7,06 (d, 2H, ar, J = 8,80 Hz), 7,14 (s, 1H, ar), 8,02 (d, 2H, ar, J = 8,76 Hz), 8,83 (s, 1H, CH); IR: 3448, 3348 Anal (C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>N<sub>4</sub>O) C, H, N.

**N-{2-[3-(4-metossifenil)-1,2,4-triazol-1-il]-4-metilfenil}-2-fenilacetammide (74)**



Ad una soluzione del 2-amminofeniltriazolo **136** (1,07 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro (32 ml) e Py anidra (0,05 ml) mantenuta a 0° in bagno a ghiaccio e sale, viene aggiunta, goccia a goccia, una soluzione di fenilacetilcloruro (3,21 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro (3,2 ml). La soluzione è mantenuta a 0° per 50 minuti, e quindi il solvente è evaporato sottovuoto. Il solido ottenuto è sospeso in acqua e la sospensione trattata con bicarbonato di sodio ed estratta con AcOEt. La fase organica è seccata su Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro ed evaporata a dare un solido giallo. Resa: 76%; p.f.: 138-139°C (EtOH); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO)δ: 2,36 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3,59 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 3,84 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 7,09 (d, 2H, ar, J = 8,80 Hz), 7,19 (s, 5H, ar), 7,30 (d, 1H, ar, J = 8,44 Hz), 7,43 (s, 1H, ar), 7,71 (d, 1H, ar, J = 8,32 Hz), 8,01 (d, 2H, ar, J = 8,80 Hz), 8,50 (s, 1H, CH), 9,72 (s, 1H, NH); IR: 3247, 3096, 1688. Anal (C<sub>24</sub>H<sub>22</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>) C, H, N.

**2-[3-(4-metossifenil)-1,2,4-triazol-1-il]-4-metil-fenilcarbammato (75-77)**



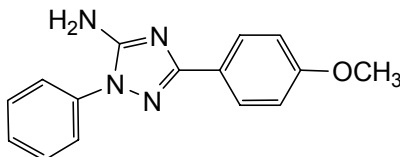
Ad una soluzione del 2-amminofeniltriazolo **136** (1,07 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro (32 ml) e Py anidra (0,05 ml) mantenuta a circa 0° in bagno a ghiaccio e sale, viene aggiunta, goccia a goccia, una soluzione dell'opportuno cloruro acido (3,21 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro (3,2 ml). La soluzione è lasciata a 0° per 2 h, dopodiché il solvente viene evaporato sottovuoto ed il solido ottenuto viene lavato con acqua per allontanare il cloruro di piridinio formatosi.

**75:** R = COOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>; Resa: 85%; p.f.: 117-118°C (CHX); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO)δ: 1,12 (t, 3H, CH<sub>3</sub>, J = 7,08 Hz), 2,37 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3,83 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4,03 (q, 2H, CH<sub>2</sub>, J = 7,08 Hz), 7,07 (d, 2H, ar, J = 8,88 Hz), 7,30 (d, 1H, ar, J = 8,41 Hz), 7,45 (s, 1H, ar), 7,58 (d, 1H, ar, J = 8,16 Hz), 8,00 (d, 2H, ar, J = 8,84 Hz), 8,84 (s, 1H, CH), 9,13 (s, 1H, NH); IR: 1726. Anal (C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>) C, H, N.

**76:** R = COOCH<sub>2</sub>CCH<sub>3</sub>; Resa: 54%; p.f.: 132-133°C (CHX); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO)δ: 2,37 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3,53 (s, 1H, CH), 3,83 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4,68 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 7,07 (d, 2H, ar, J = 8,88 Hz), 7,32 (d, 1H, ar, J = 8,28 Hz), 7,46 (s, 1H, ar), 7,59 (d, 1H, ar, J = 8,04 Hz), 8,01 (d, 2H, ar, J = 8,90 Hz), 8,84 (s, 1H, CH), 9,37 (s, 1H, NH); IR: 1720. Anal (C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>) C, H, N.

**77:** R = COOCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>; Resa: 34%; p.f.: 149-150°C (EtOH); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO)δ: 2,37 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3,83 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 5,06 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 7,06 (d, 2H, ar, J = 8,68 Hz), 7,31 (s, 6H, ar), 7,46 (s, 1H, ar), 7,61 (d, 1H, ar, J = 8,08 Hz), 8,00 (d, 2H, ar, J = 8,61 Hz), 8,85 (s, 1H, CH), 9,34 (s, 1H, NH); IR: 3227, 3109, 1728. Anal (C<sub>24</sub>H<sub>22</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>) C, H, N.

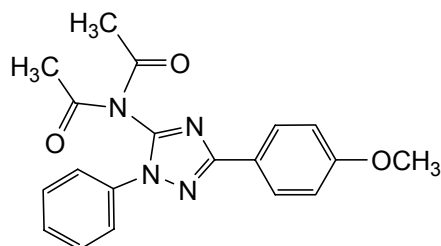
### 3-(4-metossifenil)-1-fenil-1H-1,2,4-trizolo-5-ammina (139)



In un pallone contenente la cloroimmuna **138** (4,12 mmol), è aggiunta cianammide (20,63 mmol). La miscela di reazione è scaldata a 100°C e lasciata in agitazione per 20', fino a scomparsa del prodotto di partenza. Il solido che si formata viene lavato con AcOEt e allontanato per filtrazione. Le acque madri sono evaporate sotto vuoto ed il solido che si forma è purificato tramite due separazioni cromatografiche. Eluente 1<sup>a</sup> colonna: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (9:1), eluente 2<sup>a</sup> colonna: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/AcOEt (8:2). Resa: 45%; p.f.: 152-155°C (toluene); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO)δ: 3,80 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 6,51 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 7,00 (d, 2H, ar, J = 8,68 Hz), 7,39 (t, 2H, ar, J = 7,28 Hz), 7,54 (t, 2H, ar, J = 7,64 Hz), 7,62 (d, 2H, ar, J = 7,88 Hz), 7,88 (d, 2H, ar, J = 8,60 Hz); IR: 3303. Anal (C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O) C, H, N.

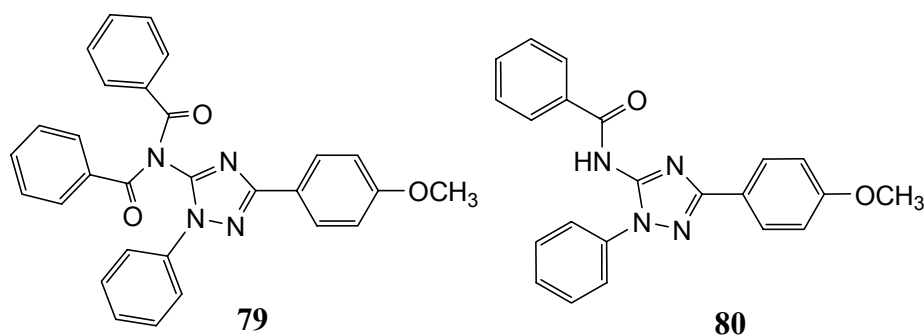


**N-acetil-N-(3-(4-metossifenil)-1-fenil-1H-1,2,4-triazol-5-il)acetammide (78)**



Ad una soluzione del 5-amminotriazolo **139** (0.75 mmol) in Py anidra (3 ml) si aggiunge anidride acetica (2.25 mmol). La miscela di reazione è scaldata a riflusso per 8 h. Dopo raffreddamento e aggiunta H<sub>2</sub>O (30 ml), si forma un precipitato che viene filtrato. Il solido è purificato per cromatografia su colonna di silice, usando come eluente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/AcOEt (8:2). Resa: 38%; p.f.: 130-132°C (CHX/AcOEt); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO)δ: 2.29 (2, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 3.83 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 7.09 (d, 2H, ar, J = 8.64 Hz), 7.54-7.60 (m, 5H, ar), 8.01 (d, 2H, ar, J = 8.64 Hz); IR: 1749, 1715. Anal (C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>) C, H, N.

**N-(3-(4-metossifenil)-1-fenil-1H-1,2,4-triazol-5-il)benzammide (79) e N-benzoil-N-(3-(4-metossifenil)-1-fenil-1H-1,2,4-triazol-5-il)benzammide (80)**



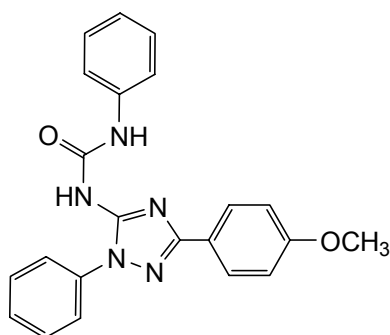
Ad una soluzione del 5-amminotriazolo **139** (0.45 mmol) in THF anidro (8 ml) e Py anidra (3 ml) è aggiunto, goccia a goccia, il benzoil cloruro (0.54 mmol) diluito in THF anidro (2 ml). La miscela di reazione è scaldata a riflusso per 25 h. Dopo 10 h, viene effettuata una nuova aggiunta di benzoil cloruro e Py (0.5 eq). Dopo raffreddamento e aggiunta H<sub>2</sub>O (30 ml) e ghiaccio (20 g), la soluzione ottenuta viene estratta con AcOEt (4 x 30 ml) e lavata con H<sub>2</sub>O (4 x 30 ml) per eliminare la Py in eccesso. L'eccesso di benzoil cloruro viene eliminato invece lavando la fase organica con una soluzione satura di NaHCO<sub>3</sub>; la soluzione madre è seccata su Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ed evaporata. L'olio

ottenuto viene purificato per cromatografia su colonna, usando come eluente  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$  (5:5).

**79:** Resa: 60%; p.f.: 154-156°C (EtOH);  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO) $\delta$ : 3.82 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 7.05 (d, 2H, ar,  $J = 6.88$  Hz), 7.41-7.45 (m, 6H, ar), 7.50-7.55 (m, 3H, ar), 7.59 (t, 2H, ar,  $J = 7.48$  Hz), 7.63 (d, 4H, ar,  $J = 7.12$  Hz), 7.93 (d, 2H, ar,  $J = 4.88$  Hz); IR: 1708. Anal ( $\text{C}_{29}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_3$ ) C, H, N.

**80:** Resa: 20%; p.f.: 156-158°C ( $\text{Et}_2\text{O}$ /Etere petrolio);  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO) $\delta$ : 3.84 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 7.08 (d, 2H, ar,  $J = 8.44$  Hz), 7.42 (t, 1H, ar,  $J = 6.88$  Hz), 7.50-7.56 (m, 4H, ar), 7.65 (d, 3H, ar,  $J = 7.16$  Hz), 7.91 (d, 2H, ar,  $J = 7.40$  Hz), 8.01 (d, 2H, ar,  $J = 8.36$  Hz), 11.17 (s, br, 1H, NH); IR: 3194, 1667. Anal ( $\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_2$ ) C, H, N.

**1-[(3-(4-metossifenil)-1-fenil-1H-1,2,4-triazol-5-il)]-3-fenilurea (81)**



Ad una soluzione del 5-amminotriazolo **139** (0.26 mmol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (4 ml) si aggiunge, goccia a goccia, alla temperatura di 5°C, una quantità equimolare di fenilisocianato in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anidro (4 ml). La miscela di reazione è lasciata a temperatura ambiente. per 20 giorni. La sospensione viene portata a piccolo volume e successivamente filtrata. Il solido risultante viene purificato per cristallizzazione. Resa: 42%; p.f.: 202-204°C (2-metossietanolo);  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO) $\delta$ : 3.83 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 7.02 (t, 1H, ar,  $J = 7.20$  Hz), 7.07 (d, 2H, ar,  $J = 8.44$  Hz), 7.30 (t, 1H, ar,  $J = 7.25$  Hz), 7.44-7.49 (m, 3H, ar), 7.57 (t, 2H, ar,  $J = 7.44$  Hz), 7.66 (d, 2H, ar,  $J = 7.84$  Hz), 7.99 (d, 2H, ar,  $J = 8.32$  Hz), 9.43 (s, 1H, NH), 9.75 (s, 1H, NH); IR: 3182, 3145, 1685. Anal ( $\text{C}_{22}\text{H}_{29}\text{N}_5\text{O}_2$ ) C, H, N.

## **6. BIBLIOGRAFIA**

- [1] Fredholm B. B. et al., *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **2005**, 45, 385.
- [2] Jacobson, K.A. et al., *Handbook of Experimental Pharmacology*, **2001**, 151/1, 129.
- [3] Jacobson, K.A. et al., *Nat. Rev. Drug Discovery*, **2006**, 5, 247.
- [4] Lenzi, O. et al., *J. Med. Chem.*, **2009**, 52, 7640.
- [5] Fredholm B.B. et al., *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **2000**, 362, 364.
- [6] Ralevich V. et al., *Pharmacol. Rev.*, **1998**, 50, 413.
- [7] Olah M.E. et al., *Pharmacol. Ther.*, **2000**, 85, 55.
- [8] Impagnatiello F. et al., *Emerg. Ther. Targets*, **2000**, 4, 635.
- [9] Coates J. et al., *Nucleosides Nucleotides*, **1994**, 13, 1953.
- [10] Jacobson K.A. et al., *J. Med. Chem.*, **1992**, 35, 407.
- [11] Kim S.K. et al., *J. Med. Chem.*, **2003**, 46, 4847.
- [12] Dragunow, M. et al., *Prog. Neurobiology*, **1988**, 31, 85.
- [13] Williams M. et al., *Receptor Pharmacology and Function*, **1989**, 503 (Eds. M. Williams, Glennon R.A., Timmermans P.B.M.W.M.).
- [14] Dragunow, M. et al., *Trends Pharmacol. Sci.*, **1986**, 7, 128.
- [15] Deckert J. et al., *Trends Pharmacol. Sci.*, **1989**, 10, 99.
- [16] Fumagalli G., Melchiorri P., *Farmacologia generale e molecolare*, **1999**, 24, 293.
- [17] Kim S.K. et al., *J. Med. Chem.*, **2003**, 46, 4847.
- [18] Maremoto T. et al., *Journal Pharmacol. Sci.* **2004**, 96, 42.
- [19] Hess S. et al., *Exp. Opin. Ther. Patents*, **2001**, 11, 1533.
- [20] Fuxe K. et al., *Movement Disorders*, **2007**, Vol. 22, (N. 14), 1990-2017.
- [21] Müller C.E. et al., *Drugs Future*, **2000**, 25, 1043.
- [22] Ikeda K. et al., *Neurochem.*, **2002**, 80, 262.
- [23] Popoli P. et al., *Progress in Neurobiology*, **2007**, 81, 331-348.
- [24] Cristalli G. et al., *Chem. Med., Chem.*, 2007, 2, 260-281
- [25] Feokistov I. et al., *J. Mol. Pharmacol.*, **1994**, 45, 1160.
- [26] Strohmeier G.R. et al., *Mol. Pharmacol.*, **1995**, 270, 2387.
- [27] Abbracchio M. P. et al., *Mol. Pharmacol.*, **1995**, 48, 1038.
- [28] Ali H. et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **1996**, 276, 837.
- [29] Linden J. et al., *Trends Pharmacol. Sci.*, **1994**, 15, 298.
- [30] Jacobson, K.A. et al., *Drugs Future*, **1995**, 20, 689.
- [31] Palmer T.M. et al., *J. Bio. Chem.*, **1995**, 270, 29607.
- [32] Lohse M. et al., *Biochim. Biophys. Acta*, **1993**, 1179, 171.
- [33] Von Lubitz, D.K.J.E. et al., *Eur. J. Pharmacol.*, **1994**, 263, 59.

- [34] Von Lubitz, D.K.J.E. et al., *Eur. J. Pharmacol.*, **1995**, 275, 23.
- [35] Abbracchio M. P. et al., *Ann. New York Acad. Sci.*, **1997**, 241, 297.
- [36] Pugliese A.M. et al., *Br. J. Pharmacol.*, **2006**, 147, 524.
- [37] Murry C.E. et al., *Circulation*, **1986**, 74, 1124.
- [38] Auchampach J.A. et al., *Circ. Res.*, **1997**, 80, 800.
- [39] Carr C.S. et al., *Cardiovasc. Res.*, **1997**, 36, 52.
- [40] Liang B.T. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1998**, 95, 6995.
- [41] Ramkumar V. et al., *J. Biol. Chem.*, **1993**, 268, 16887.
- [42] Dahlèn S.E. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **1983**, 80, 1712.
- [43] Paulwels R.A., *Arch. Int. Pharmacodyn.*, **1995**, 329, 151.
- [44] Williams M., *Med. Res. Rev.*, **1989**, 9, 219.
- [45] Ramkumar V. et al., *J. Biol. Chem.*, **1988**, 268, 16887.
- [46] Sajjadi F.G. et al., *J. Immunol.*, **1996**, 156, 3435.
- [47] Gessi S. et al., *Clin. Cancer Res.*, **2004**, 10, 5895.
- [48] Merighi S. et al., *Pharmacol. Ther.* **2003**, 100, 31.
- [49] Yang et al., *Curr. Eye Res.*, **2005**, 30, 747.
- [50] T. Lee H. et al., *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.*, **2003**, 284, F267.
- [51] Merighi S. et al., *Biochem. Pharmacol.*, **2006**, 72, 19.
- [52] Tchilibon S. et al., *J. Med. Chem.*, **2005**, 48, 1745.
- [53] Lisa C. W. et al., *J. Med. Chem.*, **2005**, 48, 2045.
- [54] Veeda M. et al., *J. Med. Chem.*, **1991**, 34, 1340.
- [55] Jacobson K. A., *Trends Pharmacol. Sci.*, **1998**, 19, 184.
- [56] Gao Z. G. et al., *J. Med. Chem.*, **2002**, 60, 1057.
- [57] Gallo-Rodriguez C. et al., *J. Med. Chem.*, **1994**, 37, 636.
- [58] Morgensen J. P. et al., *Biorg. Med. Chem.Lett.*, **1998**, 8, 1767.
- [59] Kim H. O. et al., *J. Med. Chem.*, **1994**, 37, 3614.
- [60] Volpini R. et al., *J. Med. Chem.*, **2002**, 45, 3271.
- [61] Van Tiburg E. W. et al., *J. Med. Chem.*, **2002**, 45, 420.
- [62] DeNinno M. P. et al., *J. Med. Chem.*, **2003**, 46, 353.
- [63] Jacobson K. A. et al., *J. Med. Chem.*, **2000**, 43, 2196.
- [64] Xu Z. et al., *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, **2001**, 43, 38, 474.
- [65] Lee K. et al., *Biorg. Med. Chem.Lett.*, **2001**, 11, 1333.
- [66] Salvatore C. A. et al., *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **1993**, 90, 10365.
- [67] Suzuki F. et al., *J. Med. Chem.*, **1992**, 35, 3066.

- [68] Elzeim S. et al., *J. Med. Chem.*, **2008**, 51, No. 7, 2271.
- [69] Shamin M. T. et al., *J. Med. Chem.*, **1989**, 32, 1231.
- [70] Hess S. et al., *Expert Opin. Ther. Patent*, **2001**, 11, No. 10, 1533.
- [71] Catarzi D. et al., *Il Farmaco*, **2004**, 59, 71.
- [72] Boehringer Ingelheim Pharm. KG. et al., **2000**, EP0978517.
- [73] Boehringer Ingelheim Pharm. KG. et al., **2000**, WO0012511.
- [74] Volpini R. et al., *Bioorg. Med. Chem.*, **2001**, 11, 1931.
- [75] Müller C. E. *Curr. Topics Med. Chem.*, **2003**, 3, No 4, 445.
- [76] Kim Y. C. et al., *J. Med. Chem.*, **1996**, 39, 4142.
- [77] Kim Y. C. et al., *J. Med. Chem.*, **1998**, 41, 2835.
- [78] Kerbels R. S. et al., *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **1996**, 37, 2165.
- [79] Baraldi P. G. et al., *Europ. J. Med. Chem.*, **2003**, 38, 367.
- [80] Müller C. E. et al., *Recent, Patents on CNS Drug. Discovery*, **2007**, 2, No. 1, 1.
- [81] Baraldi P. G. et al., *J. Med. Chem.*, **2002**, 45, 770.
- [82] Marconi A. et al., *J. Med. Chem.*, **2002**, 45, 3579.
- [83] Zhang X. et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2008**, 18, 1778.
- [84] Baraldi et al., *Chemical Reviews*, **2008**, Vol. 108, No. 1, 238.
- [85] Colotta V., et al., *Arch. Pharm. Med. Chem.*, **1999** 332, 39.
- [86] Colotta V. et al., *J. Med. Chem.*, **2000**, 43, 1158.
- [87] Colotta V. et al., *Bioorg. Med. Chem.*, **2003**, 11, 3541.
- [88] Colotta V. et al., *Bioorg. Med. Chem.*, **2003**, 11, 5509.
- [89] Colotta V., et al., *Arch. Pharm. Med. Chem.*, **2004** 337, 35.
- [90] Colotta V. et al., *J. Med. Chem.*, **2004**, 47, 3580.
- [91] Lenzi O. et al., *J. Med. Chem.*, **2006**, 49, 3916.
- [92] Colotta V. et al., *Bioorg. Med. Chem.*, **2008**, 16, 6086.
- [93] Catarzi D. et al., *Bioorg. Med. Chem.*, **2005**, 13, 705.
- [94] Catarzi D. et al., *J. Med. Chem.*, **2005**, 48, 7932.
- [95] Colotta V. et al. *J. Med. Chem.*, **2000**, 43, 3118.
- [96] Colotta V. et al. *J. Med. Chem.*, **2007**, 50, 4061.
- [97] Colotta V. et al. *Bioorg. Med. Chem.*, **2009**, 17, 401.
- [98] Müller C. E., et al., *Recent Patent Drug Discovery*, **2007**, 2, 1.
- [99] Jacobson, K.A. et al., *Nat. Reviews*, **2006**, 5, 254.
- [100] Takuma M. et al., *Pharm. Charac. The Journal of Pharm.*, **2007**, 323, 708.
- [101] Gonzales M. P. et al. *Med. Res, Rev.*, **2008**, 28, No. 3, 329.

- [102] Hess S. et al., *Expert Opin. Ther. Patent*, **2001**, 11, No. 10, 1533.
- [103] Alanine A. et al., *Bioorg. Med. Chem.*, **2004**, 14, 817.
- [104] Orgini E. et al., *Il Farmaco*, **2001**, 56, 87.
- [105] Morizzo E. et al., *J. Med. Chem.*, **2007**, 50, 6596.
- [106] Matasi J. J. et al., *Bioorg. Med. Chem.*, **2005**, 15, 3670.
- [107] Baraldi P. G. et al., *Drug Develop. Res.*, **2003**, 58, 315-329
- [108] Jaakola V. P. et al., *Science*, **2008**, 322, 1211.
- [109] MOE (Molecular Operating Environment), version 2009.10; software available from Chemical Computing Group Inc. (1010 Sherbrooke Street West, Suite 910, Montreal, Quebec, Canada H3A 2R7).
- [110] Baumstark A. et al. *J. Org. Chem.*, **1983**, 48, 65.
- [111] Morizzo E. et al., *Pharm. Des.*, **2009**, 15, 4069.
- [112] Davey L. et al., *J. Chem. Soc.*, **1955**, 1384.
- [113] Davey L. et al., *J. Chem. Soc.*, **1957**, 1008.
- [114] Kushwaha S. et al. *J. Indian Chem. Soc.*, **1968**, 45, 752.
- [115] Colotta V. et al., *J. Med. Chem.*, **1996**, 39, 2915.
- [116] Colotta V. et al., *Il Farmaco*, **1996**, 51, 223.
- [117] Ibraim El Sayed El Khali et al, *J. Heterocyclic Chem.*, **1979**, 16, 737.
- [118] Marei M. G. et al; *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1992**, 65, 3419.
- [119] Elkshef N. et al., *J. Chem. Soc.*, **1963**, 4643.
- [120] Evano G. et al., *Chem. Rev.*, **2008**, 108, 3054.
- [121] Biquard D. et al., *Bull. Soc. Chim. France.*, **1942**, 5, 675.
- [122] Drain D. et al., *J. Chem. Soc.*, **1955**, 852.
- [123] Hartwig J. F. et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, 118, 3626.
- [124] Kim J. et al., *J. Biol. Chem.*, **1995**, 270, 13987.
- [125] Roth H. J. et al., *Arch. Pharm.*, **1961**, 264, 478.
- [126] Prakash I. et al., *Tetrahedron letters*, **1997**, 38, 3147.
- [127] Musajo L. et al., *Gazzetta Chimica Italiana*, **1950**, 80, 161.
- [128] Ogata V. et al., *J. Med. Chem.*, **1987**, 30, 1497.
- [129] Singh R. et al., *Organic Letters*, **2005**, 7, 1829.
- [130] Handy S. T. et al., *Tetrahedron Letters*, **2007**, 48, 8108.

# **SAN FRANCISCO STATE UNIVERSITY**

## **Department of Chemistry and Biochemistry**

- ✓ “A Tandem Ruthenium Catalyzed Ring-Opening Olefin Metathesis-Peroxide Fragmentation”
- ✓ “Ru (II) Catalyzed Decompositions of Endoperoxides Derived from Fulvenes and [2.4]Spiro-4,6-heptadiene”
- ✓ “Triphenylphosphine Deoxygenations of Fulvene Endoperoxides: Selective Synthesis of Fulvene Monoepoxides and 2-Alkylidene-3-cyclopentenones”
- ✓ “Unusual Fragmentations and Isomerizations in the Fulvene Endoperoxide Series”
- ✓ “Thermal, Photochemical and Reagent-Induced Isomerizations of 7-Spirocyclopropyl-2,3-dioxabicyclo[2.2.1]heptane”
- ✓ “Ring-Functionalized Fulvenes by a Vilsmeier-Haack Reaction”

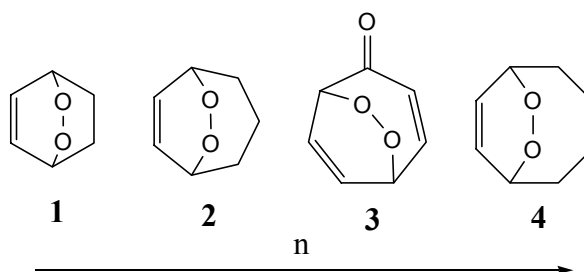
**San Francisco (CA), Ottobre 2009 – Aprile 2010**



## INTRODUZIONE E SCOPO DEL LAVORO

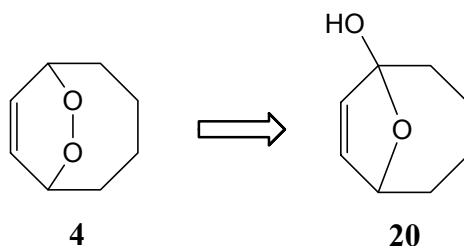
Durante il corso di Dottorato ho svolto uno stage di sei mesi presso il laboratorio del Prof. Ihsan Erden nel Dipartimento di Chimica e Biochimica della San Francisco State University (California). In questo periodo di studio mi sono occupata sia dello sviluppo di nuovi progetti, che del completamento di altri già iniziati.

Il primo progetto sul quale ho lavorato ha riguardato reazioni di metatesi olefiniche di apertura di anelli perossidici (**composti 1-4, Fig. 1**), utilizzando il catalizzatore Grubbs' di seconda generazione basandoci su dati riportati in letteratura<sup>[1,2]</sup>



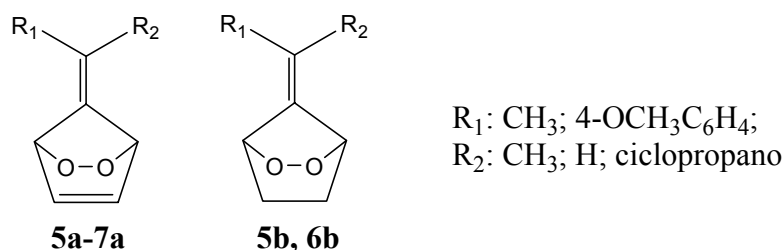
**Figura 1**

Le reazioni sono state condotte su prodotti di partenza a numero crescente di atomi di carbonio ( $n$ ) ed il risultato è stato che solamente il composto **20 (Fig. 2)** (2,3-dioxabicyclo[2.2.2]oct-5-ene) è stato ottenuto per reazione di apertura dell'anello, mentre per gli altri derivati si ha la formazione di perossidi stabili. In questo meccanismo di reazione si ha inizialmente la formazione del Ru (II), il quale catalizza la frammentazione del perossido e la formazione del composto che presenta la funzione ossidrilica sull'anello.



**Figura 2**

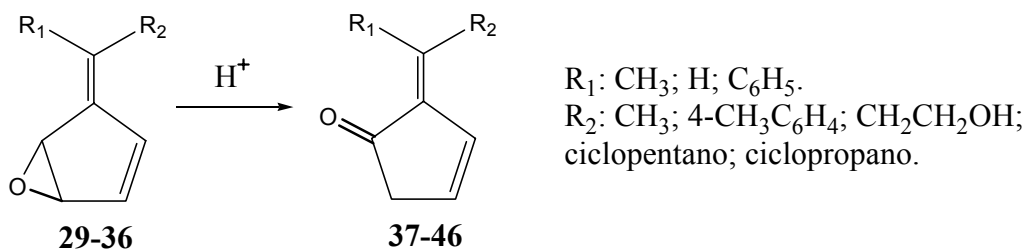
Lavorando sulle reazioni di frammentazione catalizzate dal Rutenio abbiamo anche studiato come il Ru (II) ( $\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)$ )<sup>[3]</sup> catalizza reazioni di decomposizione di composti endoperossidici del fulvene sia insaturi (**5a-7a**) che saturi (**5b, 6b**), riportati in **Figura 3**.



**Figura 3**

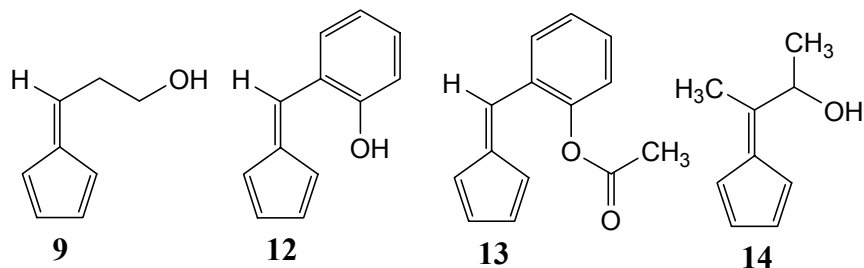
Le reazioni di decomposizione degli endoperossidi del fulvene catalizzate da Ru (II), verranno confrontate con quelle catalizzate da Co (II), per verificare eventuali analogie e differenze dovute all'uso di diversi catalizzatori.

Il gruppo di ricerca del Prof. Erden, studiando le reazioni dell'endoperossido del fulvene saturo con una base forte (1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene, DBU), ottenne come risultato la sintesi selettiva dei 2-vinil-2-ciclopentanoni<sup>[4]</sup>. Abbiamo provato quindi ad applicare questo meccanismo di isomerizzazione per la sintesi selettiva dei 2-alchilidieni-3-ciclopentanoni (**37-46**), per reazione dell'endoperossido del fulvene insaturo con la trifenilfosfina. In effetti la trifenilfosfina attacca il fulvene endoperossido e, attraverso questo meccanismo di isomerizzazione, si ottiene la sintesi selettiva dei composti **37-46** (**Fig. 4**). Non è stato possibile isolare gli intermedi **29-36** in quanto, durante la purificazione su colonna di silice, questi composti si trasformano nei corrispondenti derivati **37-46**.



**Figura 4**

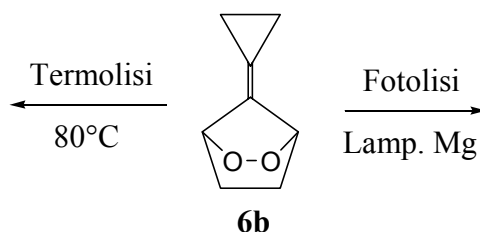
Contemporaneamente abbiamo anche studiato la frammentazione e isomerizzazione di alcuni composti a struttura fulvenica (**9**, **12-14**, **Fig 5**) durante il processo di fotoossigenazione (primo step di reazione).



**Figura 5**

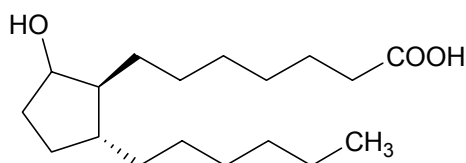
Siccome in questa reazione si forma furano, o comunque composti altamente volatili, è opportuno valutare i prodotti ottenuti sia dopo lavorazione, che direttamente nel sito di reazione, per poter confrontare i diversi risultati. E' per questo che, anche in questo caso, è stato utilizzato diclorometano deuterato, al fine di monitorare il processo di reazione con l'utilizzo dell'NMR e capirne così il meccanismo di reazione.

In entrambi i progetti che hanno riguardato la frammentazione e isomerizzazione dei fulveni, il problema principale è stato la formazione di sottoprodotti dovuti alle reazioni secondarie di termolisi e fotolisi, reazioni comunque già note e riportate in letteratura<sup>[5]</sup>. Durante lo stage mi sono occupata di sintetizzare e ottimizzare le condizioni di reazione in entrambi i progetti di ricerca, studiando parallelamente le reazioni di frammentazione termica e fotochimica del derivato 7-spirociclopropil-2,3-dioxabicyclo[2.2.1]eptano **6b**, così come la sua isomerizzazione indotta da reagenti chimici (**Fig. 6**).



**Figura 6**

Infine, nell'ultimo periodo di permanenza nel laboratorio, abbiamo avviato un progetto riguardante la sintesi di un agente prostanoide antiulcera, il Rosaprostol (**Fig. 7**), applicando le metodiche di endoperossidazione e frammentazione del fulvene precedentemente descritte.



**Figura 7:** Rosaprostol



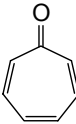
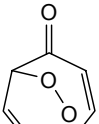




Queste reazioni permettono di sintetizzare, a partire da un prodotto commerciale, il composto Rosaprostol in soli cinque passaggi, a differenza delle vecchie metodologie riportate in letteratura. Durante la mia permanenza sono stati standardizzati i primi passaggi e abbiamo cercato di eliminare le reazioni secondarie, aumentando così le rese. Il progetto è ancora da completare, ma in questa sede non posso spiegare le metodiche di reazione utilizzate, in quanto questo progetto verrà sottoposto a brevetto.

## PARTE CHIMICA

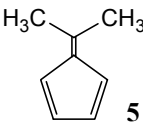
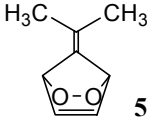
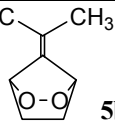
### “A Tandem Ruthenium Catalyzed Ring-Opening Olefin Metathesis-Peroxide Fragmentation” e “Ru (II) Catalyzed Decompositions of Endoperoxides Fulvenes”

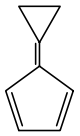
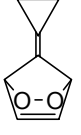
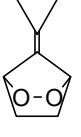
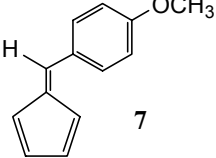
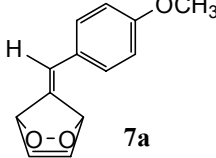
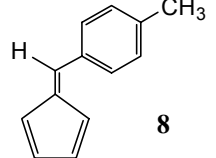
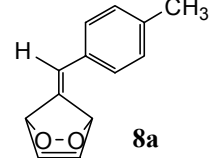
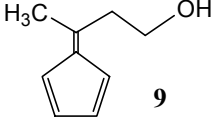
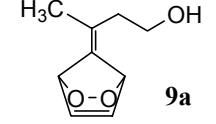
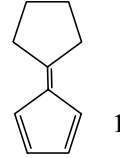
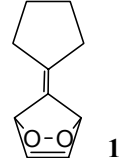
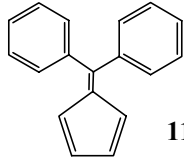
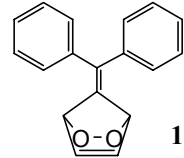
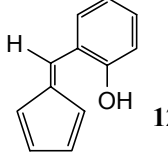
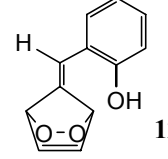
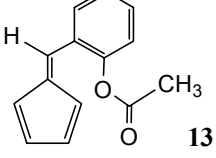
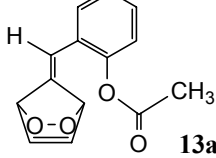
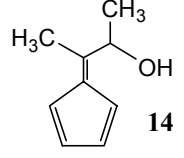
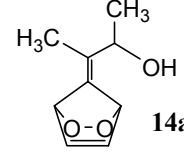
Il primo passaggio è comune a tutti gli intermedi ed è la sintesi dei derivati endoperoxidici (**1-4**, **5a-14a**, **5b**, **6b**). Questa reazione viene effettuata con l'utilizzo di una lampada UV, a -78°C, in ambiente saturo di ossigeno (**Tabella 1 e 2**)

**Tabella 1:** Formazione dei derivati 1,4-epiperossidici **1-4**

Substrato	Condizioni	Prodotto
	CCl <sub>4</sub> , TPP, O <sub>2</sub> , 4 h	 <b>1</b>
	CCl <sub>4</sub> , TPP, O <sub>2</sub> , 6 h	 <b>2</b>
	CCl <sub>4</sub> , TPP, O <sub>2</sub> , 20 h	 <b>3</b>
	CCl <sub>4</sub> , TPP, O <sub>2</sub> , 30 h	 <b>4</b>

**Tabella 2:** Formazione dei derivati endoperoxidici del fulvene **5a-14a**, **5b**, **6b**

Substrato	Condizioni	Prodotto
 <b>5</b>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , TPP, O <sub>2</sub> , 3 h	 <b>5a</b>
	1) CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , TPP, O <sub>2</sub> , 6 h 2) HN=NH	 <b>5b</b>

 <b>6</b>	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , TPP, $\text{O}_2$ , 4 h	 <b>6a</b>
	1) $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , TPP, $\text{O}_2$ , 7 h 2) $\text{HN}=\text{NH}$	 <b>6b</b>
 <b>7</b>	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , TPP, $\text{O}_2$ , 3 h	 <b>7a</b>
 <b>8</b>	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , TPP, $\text{O}_2$ , 3 h	 <b>8a</b>
 <b>9</b>	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , TPP, $\text{O}_2$ , 4 h	 <b>9a</b>
 <b>10</b>	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , TPP, $\text{O}_2$ , 4 h	 <b>10a</b>
 <b>11</b>	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , TPP, $\text{O}_2$ , 4 h	 <b>11a</b>
 <b>12</b>	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , TPP, $\text{O}_2$ , 4 h	 <b>12a</b>
 <b>13</b>	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , TPP, $\text{O}_2$ , 4 h	 <b>13a</b>
 <b>14</b>	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , TPP, $\text{O}_2$ , 3 h	 <b>14a</b>

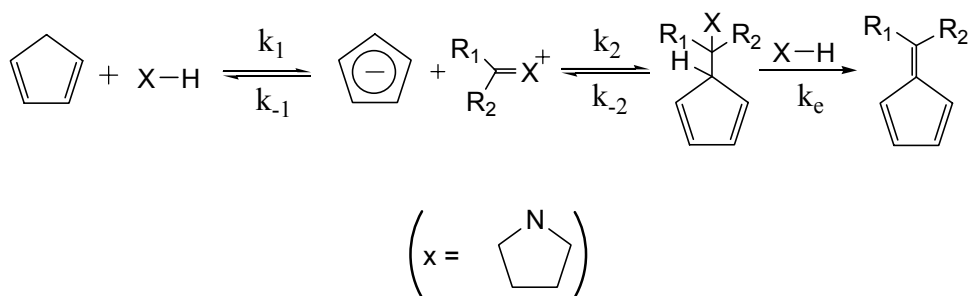
Si può notare come il tempo di reazione, necessario alla completa scomparsa del prodotto di partenza, aumenti notevolmente all'aumentare degli atomi di carbonio, in quanto il ciclo diventa meno reattivo. E' per questo che, nei cicli dove  $C > 5$  ed il tempo di reazione aumenta notevolmente, viene utilizzato come solvente  $CCl_4$ . Essendo privo di atomi di idrogeno, permette un continuo monitoraggio sulla scomparsa del prodotto di partenza tramite NMR, visto che i prodotti che si formano sono poco visibili alla lampada UV.

I derivati **5b** e **6b** sono stati sintetizzati a partire dai corrispondenti composti insaturi (**5a** e **6a**) per reazione con l'idrazina a  $-78^\circ C$ , in ambiente di gas inerte ( $N_2$ ).

Tutti i composti sintetizzati (**1-4**, **5a**, **5b**, **6b**, **7a-14a**) risultano stabili e non subiscono nessun riarrangiamento o isomerizzazione, se mantenuti alla temperatura di  $4-6^\circ C$  (**Tabella 1 e 2**); solo l'intermedio **6a** risulta altamente instabile ed esplosivo. I composti endoperossidici a struttura fulvenica (sia saturi che insaturi), essendo comunque meno stabili dei prodotti **1-4**, vengono sintetizzati ed utilizzati immediatamente per la reazione successiva.

Per la sintesi dei composti a struttura fulvenica (**5-14**) si sfrutta una tecnica che prevede l'utilizzo della pirrolidina che agisce sia come base, che come catalizzatore (**Schema 1**)<sup>[6]</sup>. Infatti è proprio la pirrolidina che, non solo rende lo ione carbonile molto più reattivo ( $K_2 > K_{-2}$ ), ma favorisce anche il processo di disidratazione, facendo prevalere la sintesi del fulvene sull'eventuale formazione di sottoprodotti.

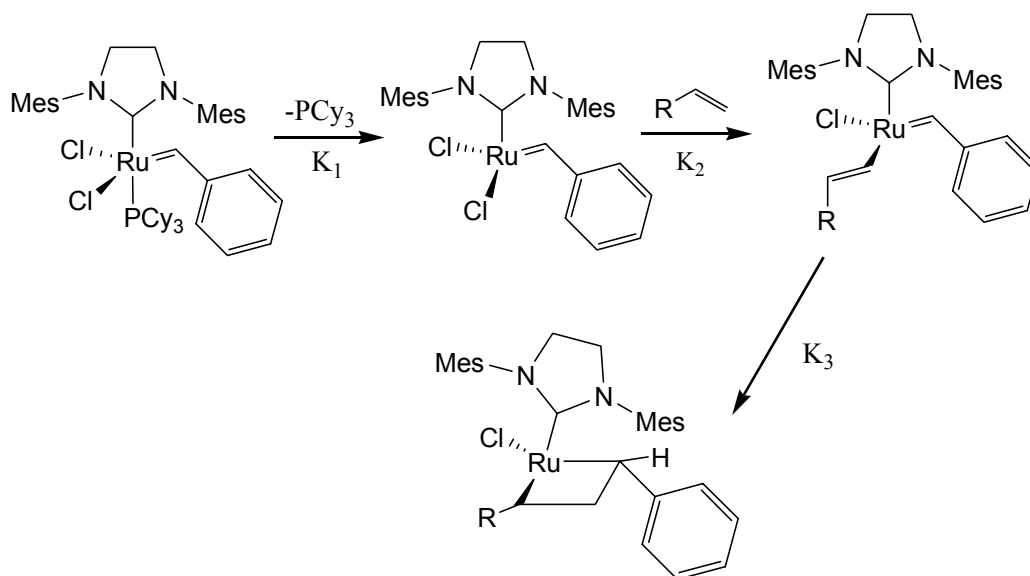
**Schema 1:** Sintesi dei derivati fulvenici (**5-14**)



Per la successiva reazione di apertura degli anelli perossidici sono utilizzati due diversi catalizzatori. Per l'apertura dei derivati 1,4-epiperossidi (**1-4**, **Tab. 1**), è stato utilizzato il catalizzatore Grubbs' di seconda generazione, in quanto risulta molto più reattivo di

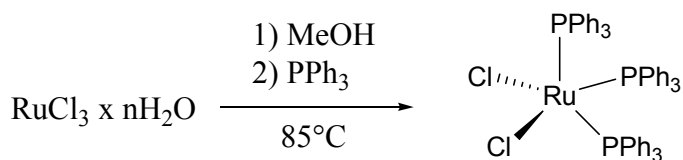
quello di prima generazione. Il meccanismo di attivazione del catalizzatore a Ru (II), avviene per reazione con una olefina (stirene) (**Schema 2**)<sup>[7]</sup>.

**Schema 2**



Per quanto riguarda invece i composti endoperossidici a struttura fulvenica, sia insaturi (**5a-7a**) che saturi (**5b** e **6b**), mostrati in **Tabella 2**, viene usato il Ru (II) [(RuCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)]. Questo catalizzatore viene sintetizzato a partire dal Ru (III) cloridrato per reazione con la trifenilfosfina<sup>[3]</sup> (**Schema 3**).

**Schema 3**

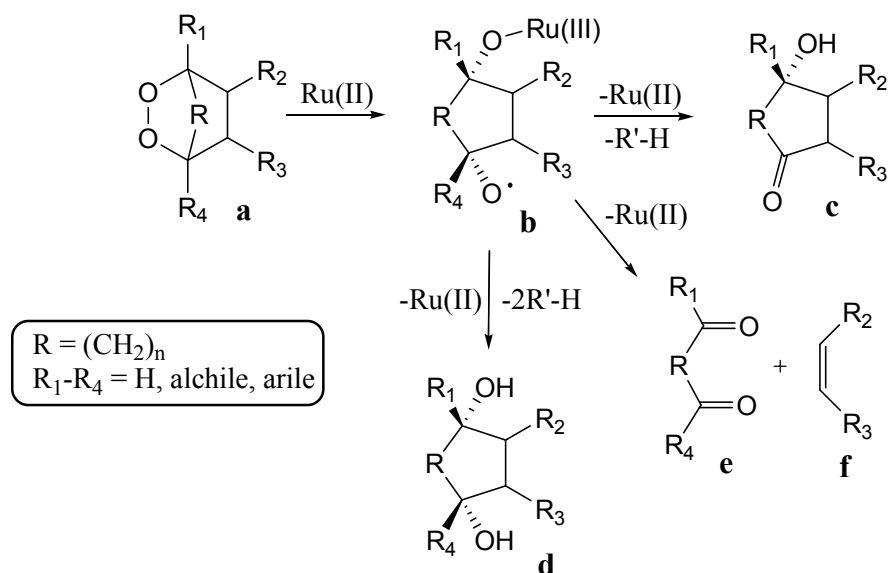


L'apertura dell'anello perossidico dei composti **1-4**, **5a-7a**, **5b** e **6b**, con la rottura del legame O–O (sito-specifica), può avvenire con due diversi meccanismi di reazione<sup>[3]</sup> (**Schema 4**).

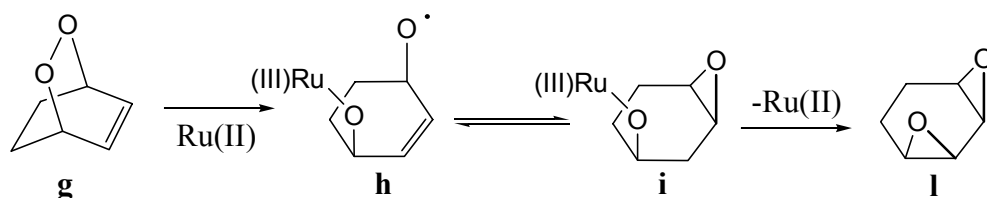


## Schema 4: Meccanismi di apertura dell'anello perossidico

### Meccanismo di reazione A




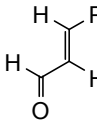
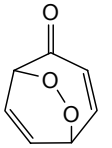
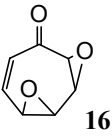
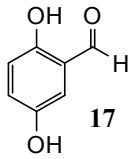

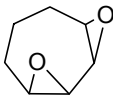
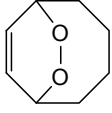
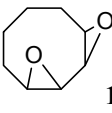
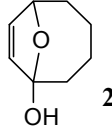
### Meccanismo di reazione B



In entrambi i meccanismi A e B, le specie radicaliche (**b** e **h**), formatesi per reazione di trasferimento di un elettrone fra il Ru (II) e l'endoperossido (**a** e **g**), gioca un ruolo fondamentale. A seconda poi della natura, della stabilità e della reattività del substrato si può avere un diverso riarrangiamento e quindi prodotti diversi. Importante è anche la scelta del solvente, che deve essere necessariamente aprotico.

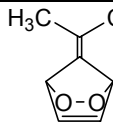
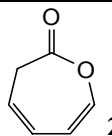
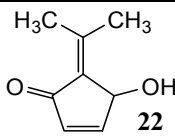
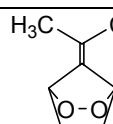
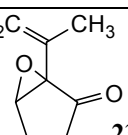
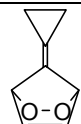
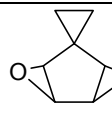
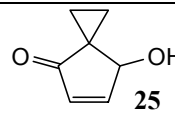
Dalla **Tabella 3** si può vedere come i composti **1-4** epiperossidici reagiscono secondo il meccanismo di reazione B, con formazione di derivati a struttura bis-epossidica. Solo con il composto **4**, si ha anche la formazione del 9-oxabicyclo[4.2.1]non-7-olo **20**, attraverso il meccanismo di reazione A.

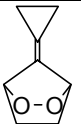
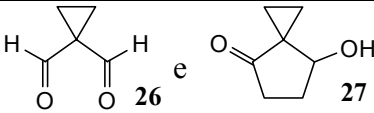
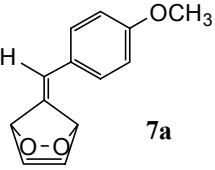
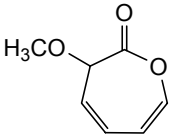
**Tabella 3:** Apertura dell'anello epiperossidico

Substrato	Condizioni	Prodotto/i
 <b>1</b>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , cat. Grubbs' (2%), N <sub>2</sub> , 2.5 h, T = r.t.	 <b>15</b>
 <b>2</b>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , cat. Grubbs' (2%), N <sub>2</sub> , 3 h, T = r.t.	 <b>16</b>  <b>17</b>
 <b>3</b>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , cat. Grubbs' (2%), N <sub>2</sub> , 5 h, T = r.t.	 <b>18</b>
 <b>4</b>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , cat. Grubbs' (2%), N <sub>2</sub> , 5.5 h, T = r.t.	 <b>19</b>  <b>20</b>

Per quanto riguarda invece le reazioni decomposizione dei derivati endoperossidici del fulvene (**5a-7a**, **5b** e **6b**, **Tab. 4**), la temperatura è un fattore importante: per evitare reazioni di termolisi, e quindi isomerizzazioni inopportune, la temperatura deve essere mantenuta fra -78°C e -40°C, in funzione della stabilità del substrato.

**Tabella 4:** Apertura dell'anello fulvenico

Substrato	Condizioni	Prodotto
 <b>5a</b>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , cat. Ru (II) (2%), N <sub>2</sub> , 3 h, T = -40°C	 <b>21</b>  <b>22</b>
 <b>5b</b>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , cat. Ru (II) (2%), N <sub>2</sub> , 3 h, T = -78°C	 <b>23</b>
 <b>6a</b>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , cat. Ru (II) (2%), N <sub>2</sub> , 3 h, T = -40°C	 <b>24</b>  <b>25</b>

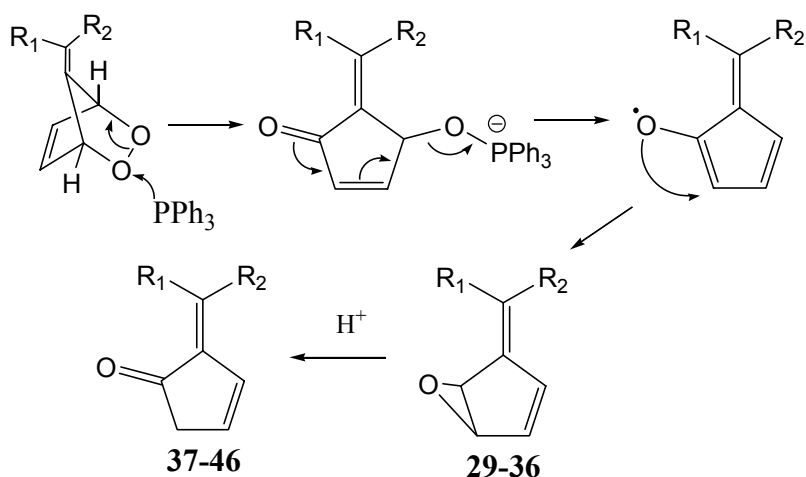
 <b>6b</b>	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , cat. Ru (II) (2%), $\text{N}_2$ , 3 h, $T = -40^\circ\text{C}$	 <b>26</b> e <b>27</b>
 <b>7a</b>	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , cat. Ru (II) (2%), $\text{N}_2$ , 3 h, $T = -78^\circ\text{C}$	 <b>28</b>

Dai dati riportati in **Tabella 4** si può notare come la reazione di decomposizione degli endoperossidi della serie del fulvene, seguono prevalentemente il meccanismo di reazione A.

### “Triphenylphosphine Deoxygenations of Fulvene Endoperoxides: Selective Synthesis of Fulvene Monoepoxides and 2-Alkylidene-3-cyclopentenones”

Ancora lavorando sulla serie del fulvene, abbiamo effettuato la sintesi selettiva dei 2-alkylidene-3-ciclopentanoni (**37-46**), per reazione del fulvene insaturo endoperossido con la trifenilfosfina, che attraverso un meccanismo di isomerizzazione, fornisce selettivamente i composti **37-46** (Schema 5).

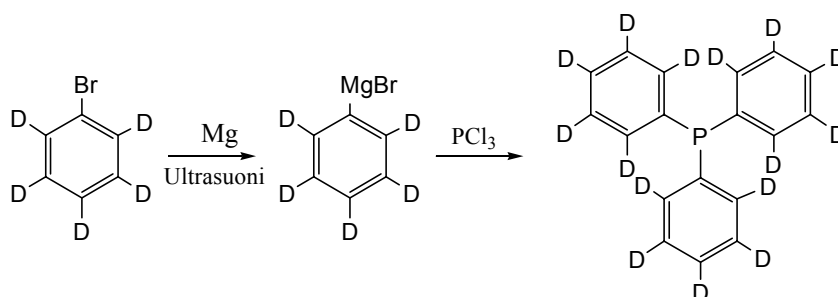
**Schema 5**



L'isolamento dell'intermedio **29-36** non è stato possibile, in quanto durante la purificazione su colonna cromatografia, la presenza di silice e di ossigeno atmosferico,

porta alla completa trasformazione nel composto **37-46**. Per superare questo problema e verificare la reale percentuale di monoepossido che si forma in questa reazione, sono state utilizzate le classiche tecniche di TLC, ma senza successo. Così, per superare il problema, abbiamo pensato di utilizzare solventi e reattivi deuterati, per poter monitorare direttamente nella reazione, con l'utilizzo dell'NMR, la percentuale di formazione del composto **29-36**. In questo modo si è visto che, durante questo step, il prodotto che si forma è quasi esclusivamente il monoepossido **29-36** che però, essendo instabile all'aria, si trasforma totalmente in **37-46**, durante la purificazione su colonna. La trifenilfosfina deuterata è stata sintetizzata come mostrato nello **Schema 6**, e per favorire la formazione della soluzione di Grignard, abbiamo utilizzato gli ultrasuoni.

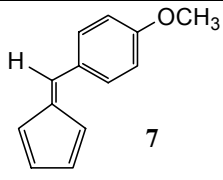
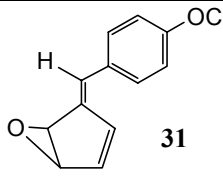
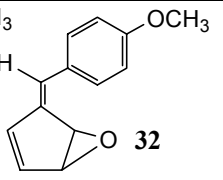
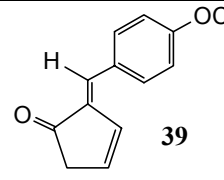
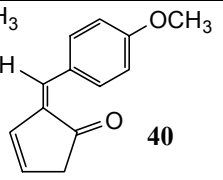
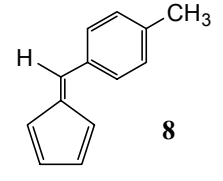
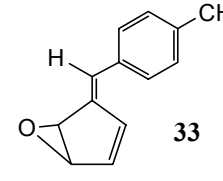
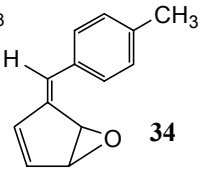
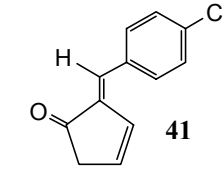
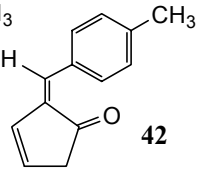
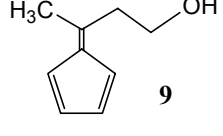
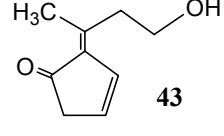
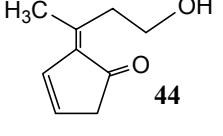
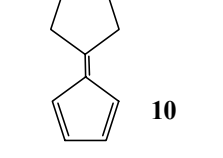
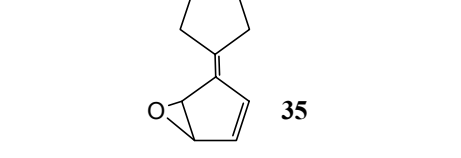
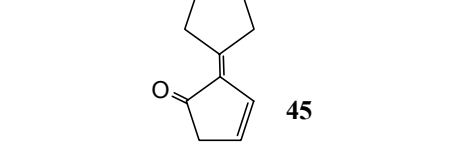
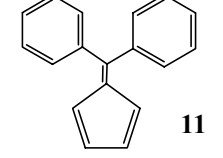
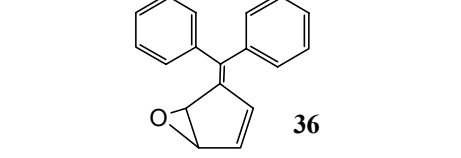
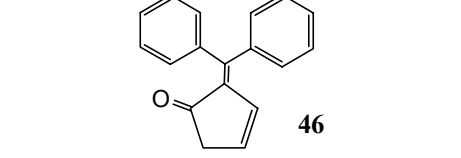
**Schema 6**



I substrati a struttura fulvenica **5-11** vengono fatti reagire con la trifenilfosfina deuterata utilizzando come solvente di reazione il diclorometano deuterato a fornire, come intermedi gli epossidi **29-36**, e quindi i ciclopentanoni **37-46** come prodotti finali (**Tabella 5**).

**Tabella 5:** 2-alcildieni-3-ciclopentanoni ottenuti dai derivati fulvenici **37-46**

Substrato	Epossido	Ciclopentanone
 <b>5</b>	 <b>29</b>	 <b>37</b>
 <b>6</b>	 <b>30</b>	 <b>38</b>

 <b>7</b>	 <b>31</b>  <b>32</b>	 <b>39</b>  <b>40</b>
 <b>8</b>	 <b>33</b>  <b>34</b>	 <b>41</b>  <b>42</b>
 <b>9</b>	-	 <b>43</b>  <b>44</b>
 <b>10</b>	 <b>35</b>	 <b>45</b>
 <b>11</b>	 <b>36</b>	 <b>46</b>

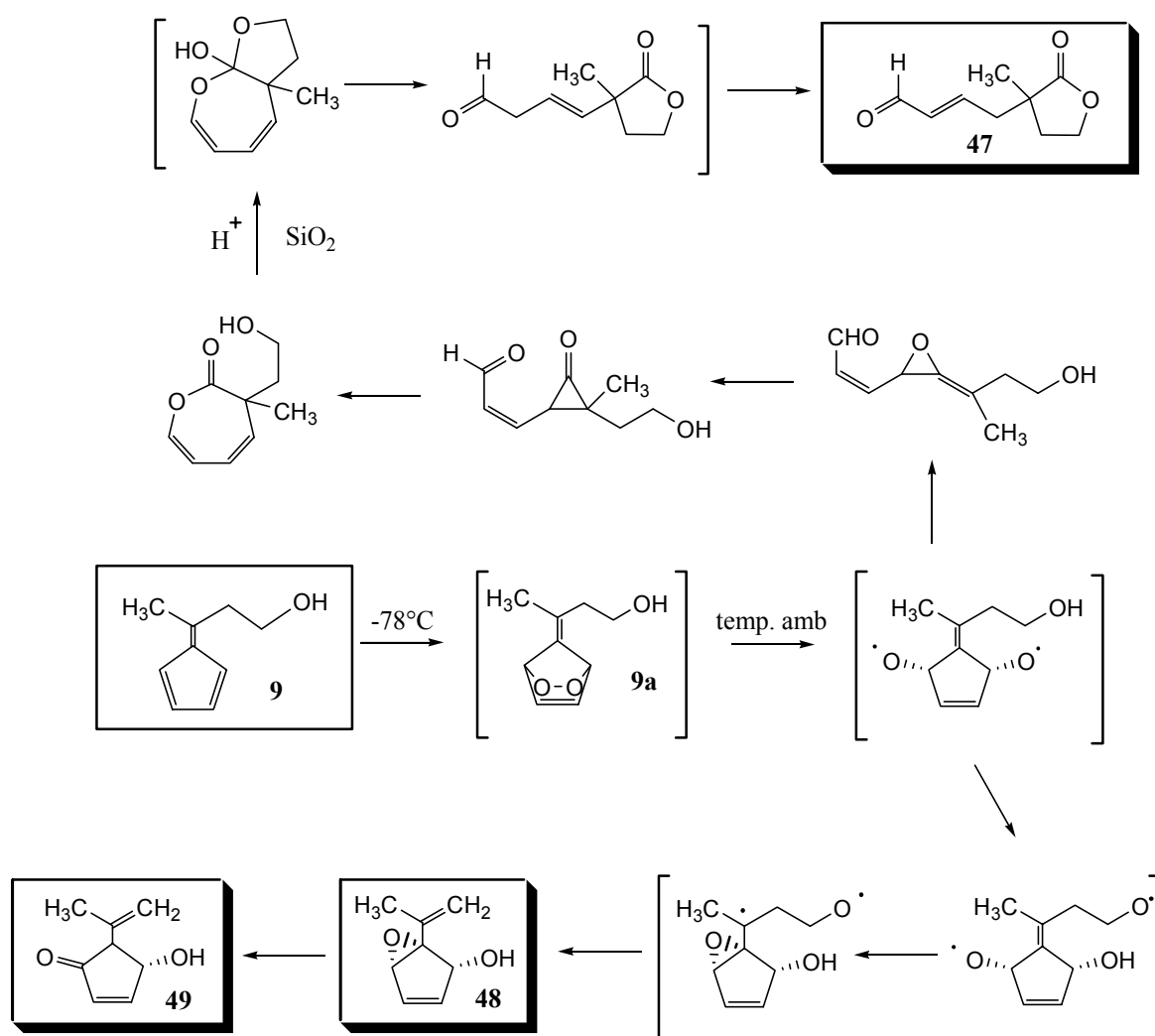
I risultati ottenuti hanno permesso di mettere in evidenza che questa reazione porta alla formazione dei monoepossidi **29-36** e che, alla temperatura di  $-40^{\circ}\text{C}$ , i composti sono anche stabili. Solo dopo la purificazione su colonna cromatografia, per la presenza di silice e ossigeno atmosferico, si ha la completa trasformazione nei derivati a struttura 2-alchildiene-3-ciclopentanonica **37-46**. Solo nel caso del composto **9**, non si ha la formazione del monoepossido, ma si formano direttamente gli isomeri **43** e **44**.

### “Unusual Fragmentations and Isomerizations in the Fulvene Endoperoxide Series”

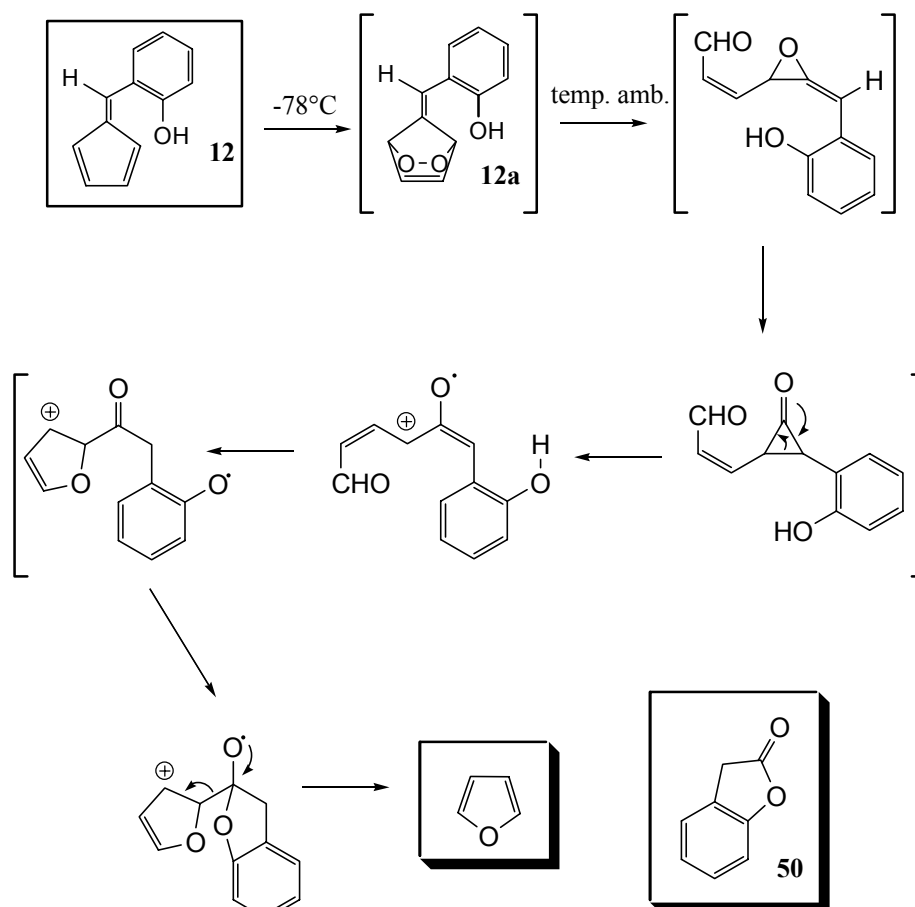
Questo progetto ha riguardato lo studio di alcuni composti a struttura fulvenica sottoposti a foto-ossigenazione; durante la quale subiscono, a temperatura ambiente, reazioni di frammentazione, isomerizzazione e riarrangiamento, diverse a seconda del substrato. Poiché uno dei prodotti che può generarsi in questo tipo di reazione è il furano, altamente volatile, le reazioni sono state effettuate in presenza di solvente deuterato, al fine di capire meglio il meccanismo di reazione.

Negli **Schemi 7-10** sono riportate le reazioni di alcuni composti a struttura fulvenica **9**, **12-14**, studiate in questo progetto.

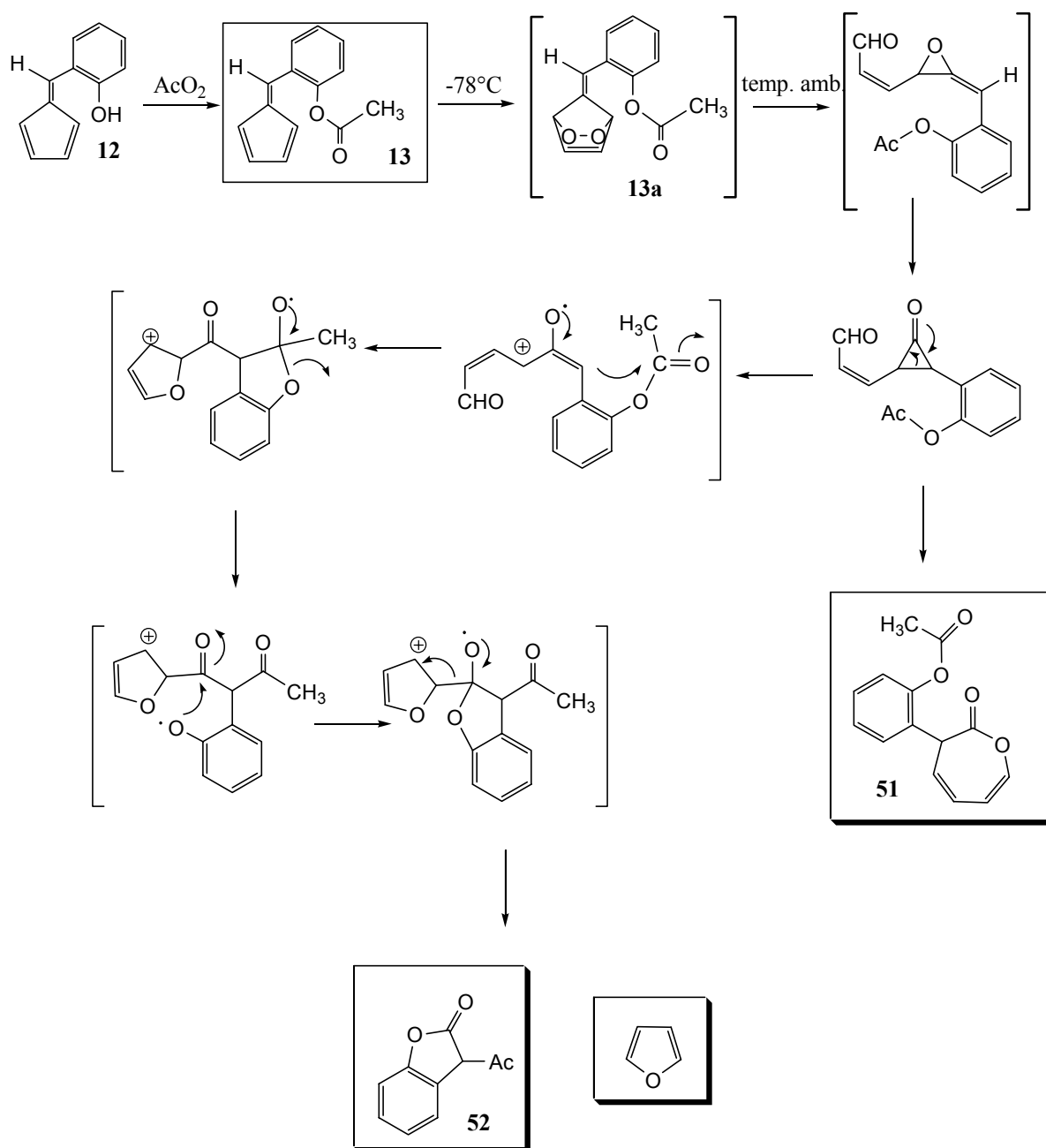
**Schema 7:** Reazione di foto-ossigenazione sul 3-(ciclopenta-2,4-dienildiene)butan-1-olo (**9**)



**Schema 8:** Reazione di foto-ossigenazione sul 2-(ciclopenta-2,4-dienildiene-metil)fenolo (**12**)

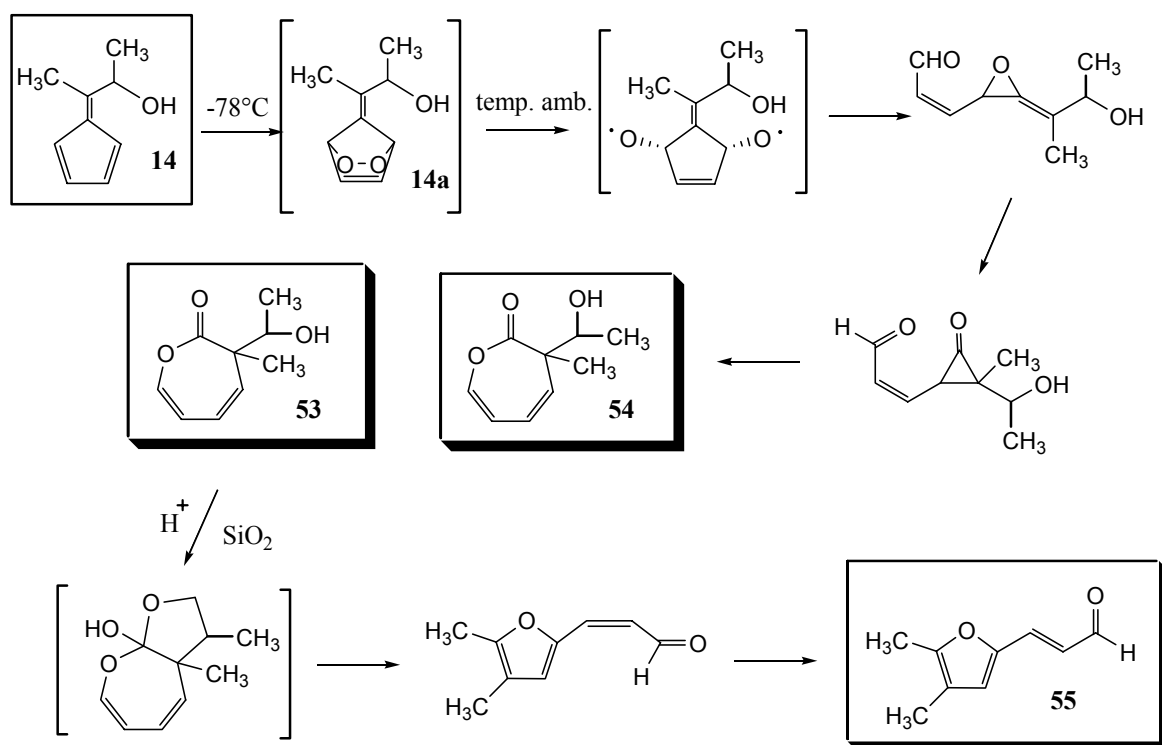


**Schema 9:** Reazione su 2-(ciclopenta-2,4-dienildiene-metil)fenil-acetato (**13**):





**Schema 10:** Reazione di foto-ossigenazione sul 3-(ciclopenta-2,4-dienildiene)butan-2-olo (**14**)



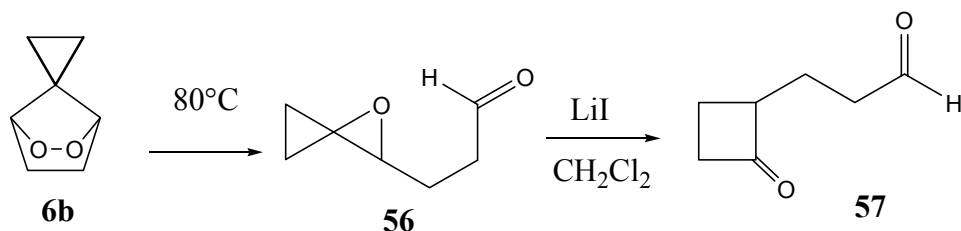
I risultati ottenuti sono molto interessanti, in quanto dimostrano come la temperatura giochi un ruolo fondamentale in questo tipo di reazioni. Infatti, substrati diversi a struttura fulvenica, a temperatura ambiente subiscono un riarrangiamento che porta alla formazione di prodotti nuovi e stabili, a struttura diversa.

### “Thermal, Photochemical and Reagent-Induced Isomerizations of 7-Spirocyclopropyl-2,3-dioxabicyclo[2.2.1]heptane”

Visto il ruolo fondamentale della luce e della temperatura in questo tipo di reazioni, si è pensato di studiare, in un progetto parallelo, le reazioni di fotolisi e termolisi di substrati a struttura fulvenica, in particolare del 7-spirociclopropil-2,3-dioxabicyclo[2.2.1]eptano **6b**. Abbiamo così sottoposto questo composto a temperature crescenti, in modo da valutare la temperatura critica per la riuscita di questo tipo di reazioni. E’ stato osservato che alla temperatura di  $80^{\circ}\text{C}$ , si ha la totale trasformazione del composto **6b** nel derivato 3-(1-oxaspiro[2.2]pentan-2-il)propanale **56**, che risulta non solo stabile a

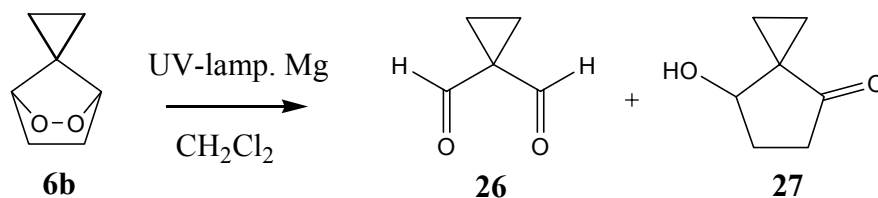
temperatura ambiente, ma può anche essere trasformato nel corrispondente ciclobutanone **57** per reazione con LiI in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub><sup>[8]</sup>(**Schema 11**).

**Schema 11**



Allo stesso modo abbiamo valutato le possibili reazioni di termolisi di questo substrato in presenza di una lampada al magnesio, per capire come la luce ne influenzi la stabilità ed il riarrangiamento (**Schema 12**). La reazione conduce agli stessi prodotti (**26** e **27**) ottenuti nel processo di decomposizione di **6b** catalizzato da Ru(II), anche se in rapporto percentuale diverso.

**Schema 12**



Questo studio parallelo è stato molto interessante in quanto ci ha permesso di capire le condizioni di reazione da adottare nelle reazioni dove il substrato in esame è sensibile sia alla temperatura che alla luce. Abbiamo infatti effettuato lo studio sul composto meno stabile fra i derivati a struttura fulvenica, così da capire quali fossero le condizioni limite per poter effettuare le reazioni su questi substrati.

## PARTE SPERIMENTALE

Le cromatografie su strato sottile sono state condotte su lastre di gel di silice Keisegel Merck F<sub>254</sub>.

Le purificazioni sono state effettuate mediante gel di silice Merck 60 (0.04-0.063 mm), utilizzando gli opportuni eluenti.

Gli spettri IR sono stati registrati con uno spettrofotometro Perkin-Elmer 1500, utilizzando una pasta nujol per i solidi o un film di prodotto per i liquidi.

Gli spettri <sup>1</sup>H-NMR e <sup>13</sup>C-NMR sono stati eseguiti con uno spettrometro Bruker Avance 500 MHz in soluzione di CDCl<sub>3</sub> o DMSO-d<sub>6</sub>. Il segnale del deuterio è stato usato come segnale del lock del campo. I chemical shifts sono riportati in δ (ppm) rispetto al picco centrale del solvente.

Sono state usate le seguenti abbreviazioni: s =singoletto, d =doppietto, dd =doppietto di doppietti, t =tripletto, q =quartetto; m =multipletto, Ar = protoni aromatici.

Le costanti di accoppiamento (J) sono misurate in Hz.

### Procedura generale per la sintesi dei derivati 1,4-epiperossidi (1-4)

Ad una soluzione dell'1,3-diene opportuno (3.62 mmol) in CCl<sub>4</sub> (10 ml), viene aggiunto qualche cristallo di trifenilfosfina (TPP). Un pallone pieno di O<sub>2</sub> è fissato sul tappo e la miscela di reazione è agitata a temperatura ambiente sotto una lampada UV, fino a scomparsa del prodotto di partenza.

**1:** t: 4 h; Resa: 97%; <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 1.33-1.41 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.54-1.68 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 5.75 (d, 2H, =CH, J = 7.46 Hz), 5.93-6.02 (m, 2H, CH).

**2:** t: 6 h; Resa: 86%; <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 3.47 (d, 1H, =CH, J = 5.64 Hz), 3.58 (t, 1H, =CH, J = 6.50 Hz), 4.49 (d, 1H, CH, J = 7.97 Hz), 4.76 (t, 1H, =CH, J = 6.50 Hz), 5.72-5.84 (m, 2H, CH + =CH).

**3:** t: 20 h; Resa: 86%; <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 1.50-1.69 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.84-1.92 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.05-2.13 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.62-4.69 (m, 2H, CH), 6.72 (d, 2H, =CH, J = 4.82 Hz).

**4:** t: 20 h; Resa: 96%;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.58-1.64 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1.68-1.75 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1.79-1.90 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 2.07- 2.19 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 4.78 (d, 2H,  $=\text{CH}$ ,  $J = 5.02$  Hz), 6.23-6.29 (m, 2H, CH).

#### **Procedura generale per la sintesi dei derivati a struttura fulvenica (5-12, 14)**

Al MeOH (100 ml) raffreddato a  $0^\circ\text{C}$ , si aggiunge ciclopentadiene (133.4 mmol) e successivamente, goccia a goccia, l'opportuno chetone (106.6 mmol) e pirrolidina (80 mmol) in 10 ml di MeOH. La miscela di reazione viene lasciata in agitazione a  $0^\circ\text{C}$  fino a scomparsa del prodotto di partenza. Successivamente si aggiunge AcOH (5 ml) e  $\text{H}_2\text{O}$  (100 ml) e si estrae con pentano (3 x 50 ml). La fase organica è lavata con una soluzione di  $\text{NaHCO}_3$  al 10% e seccata su  $\text{MgSO}_4$ . Il solvente viene rimosso per evaporazione sotto vuoto.

**5:** t: 2 h; Resa: 88%;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 2.24 (s, 6H,  $2\text{CH}_3$ ), 6.54 (d, 2H,  $2\text{CH}$ ,  $J = 4.87$  Hz), 6.57 (d, 2H,  $2\text{CH}$ ,  $J = 4.87$  Hz).

**6:** t: 3 h; Resa: 71%;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 0.14-0.22 (m, 4H,  $2\text{CH}_2$  ciclopropano), 6.38-6.43 (m, 2H, CH), 6.48-6.52 (m, 2H, CH).

**7:** 3.5 h; Resa: 81%;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3.85 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 6.41-6.45 (m, 4H,  $4\text{CH}$ ), 6.60 (s, 1H,  $=\text{CH}$ ), 7.09 (d, 2H, ar,  $J = 7.85$  Hz), 8.34 (d, 2H, ar,  $J = 7.85$  Hz).

**8:** t: 3.5 h; Resa: 80%;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 2.41 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 6.38-6.43 (m, 4H,  $4\text{CH}$ ), 6.62 (s, 1H,  $=\text{CH}$ ), 7.18 (d, 2H, ar,  $J = 8.16$  Hz), 7.39 (d, 2H, ar,  $J = 8.16$  Hz).

**9:** t: 2.5 h; Resa: 85%;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 2.03 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.47 (s br, 1H, OH), 2.76 (t, 2H,  $\text{CH}_2$ ,  $J = 7.40$  Hz), 4.16-4.21 (m,  $2\text{H}$ ,  $\text{CH}_2$ ), 6.46-6.53 (m, 4H, CH).

**10:** t: 4 h; Resa: 89%;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.76-1.84 (m, 4H,  $2\text{CH}_2$  ciclopentano), 2.87-2.94 (m, 4H,  $2\text{CH}_2$  ciclopentano), 6.44-6.50 (m, 4H,  $4\text{CH}$ ).

**11:** t: 3 h; Resa: 78%;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 6.43-6.46 (m, 4H,  $4\text{CH}$ ), 7.21 (d, 4H, ar,  $J = 7.24$  Hz), 7.30 (d, 4H, ar,  $J = 7.44$  Hz), 7.35 (t, 2H, ar,  $J = 7.20$  Hz).

**12:** t: 4 h; Resa: 93%;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 6.45-6.49 (m, 4H, 4CH), 6.68 (d, 1H, ar,  $J = 7.65$  Hz) 6.87 (s, 1H, =CH), 7.02-7.13 (m, 3H, ar), 9.82 (s br, 1H, OH).

**14:** t: 4 h; Resa: 82%;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.71 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.72 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 4.05-4.09 (m, 1H, CH), 4.14 (s br, 1H, OH), 6.44-6.47 (m, 4H, 4CH).

### **Sintesi del derivato 2-(ciclopenta-2,4-dienildiene-metil)-fenilacetato (13)**

Ad una soluzione del fulvene **12** (2.23 mmol) in  $\text{Et}_2\text{O}$  anidro (15 ml) è aggiunto  $\text{K}_2\text{CO}_3$  anidro (4.12 mmol) e anidride acetica (5.98 mmol). La sospensione viene agitata vigorosamente per 30 minuti, poi il precipitato viene allontanato e le acque madri eteree sono lavate con una soluzione di  $\text{NaHCO}_3$  e seccate su  $\text{MgSO}_4$ . Il solvente viene rimosso per evaporazione sotto vuoto e il prodotto viene purificato per cromatografia su colonna utilizzando come eluente etere di petrolio/ $\text{AcOEt}$  (7:3). Resa: 51 %;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ : 2.39 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 6.31-6.33 (m, 1H, fulvene), 6.53-6.56 (m, 2H, fulvene), 6.68-6.70 (m, 1H, fulvene), 7.06-7.15 (m, 1H, ar), 7.29 (s, 1H, CH), 7.31-7.35 (m, 1H, ar), 7.41 (t, 1H, ar,  $J = 6.87$  Hz), 7.78 (d, 1H, ar,  $J = 7.80$  Hz).

### **Procedura generale per le reazioni di metatesi olefiniche di apertura di anelli perossidici, utilizzando il catalizzatore Grubbs' di seconda generazione (15-20)**

Ad una soluzione di Grubbs' (2%) in stirene (4.46 mmol) in ambiente di gas inerte ( $\text{N}_2$ ), si aggiunge una soluzione dell'opportuno endoperossido (**1-4**) (0.446 mmol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 ml). La miscela di reazione è lasciata a temperatura ambiente fino a scomparsa del prodotto di partenza.

**15:** t: 2.5 h; Resa: 59%;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 6.59-6.67 (m, 1H, =CH), 7.32-7.40 (m, 3H, ar), 7.51-7.60 (m, 3H, 2 ar + =CH), 9.68 (s, 1H, CHO).

**16:** t: 3 h; Resa: 30%;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3.45-3.52 (m, 1H, CH), 3.56-3.59 (m, 1H, CH), 3.62-3.67 (m, 1H, CH), 3.89-3.95 (m, 1H, CH), 5.59 (d, 1H, =CH,  $J = 5.25$  Hz), 6.52-6.59 (m, 1H, =CH).

**17:** t: 3 h; Resa: 17%;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 6.74-6.89 (m, 2H, ar), 7.11 (s, 1H, ar), 9.83 (s, 2H, 2OH), 10.24 (s, 1H, CHO).

**18:** t: 5 h; Resa: 47%;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.13-1.21 (m, 1H,  $\text{CH}_2$ ), 1.43-1.58 (m, 1H,  $\text{CH}_2$ ), 1.72-1.84 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 2.18-2.25 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.09-3.16 (m, 2H, 2CH), 3.20-3.28 (m, 2H, 2CH).

**19:** t: 5.5 h; Resa: 42%;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.33-2.03 (m, 8H, 4 $\text{CH}_2$ ), 3.02-3.09 (m, 2H, 2CH), 3.38-3.45 (m, 2H, 2CH).

**20:** t: 5.5 h; Resa: 21%;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.42-1.75 (m, 6H, 3 $\text{CH}_2$ ), 1.87-2.01 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 2.89 (s, 1H, OH), 5.01 (s, 1H, CH), 5.67 (d, 1H, =CH,  $J = 5.67$  Hz), 5.98-6.05 (m, 1H, =CH).

#### **Procedura generale per la sintesi dei derivati endoperossidi insaturi del fulvene (5a-14a)**

Ad una soluzione dell'opportuno fulvene (**5-14**) (2.71 mmol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  viene aggiunto qualche cristallo di TPP. Un pallone pieno di  $\text{O}_2$  è fissato sul tappo e la miscela di reazione è agitata a  $-78^\circ\text{C}$  sotto una lampada UV, fino a scomparsa del prodotto di partenza. Si lascia raggiungere la temperatura di  $-40^\circ\text{C}$  e si utilizzano i prodotti **5a-14a** che si sono formati per le reazioni successive, direttamente nello stesso step.

#### **Procedura generale per la sintesi dei derivati endoperossidi saturi del fulvene (5b-6b)**

Ad una soluzione dell'opportuno fulvene (**5 e 6**) (7.85 mmol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  viene aggiunto qualche cristallo di TPP. Un pallone pieno di  $\text{O}_2$  è fissato sul tappo e la miscela di reazione è agitata  $-78^\circ\text{C}$  sotto una lampada UV, per 3 h. Viene così aggiunta idrazina (15.7 mmol) e, goccia a goccia,  $\text{AcOH}$  (15 ml). La miscela di reazione viene lasciata in agitazione per 4 h e la temperatura viene gradualmente aumentata fino a  $0^\circ\text{C}$ . L'idrazina viene allontanata per filtrazione e le acque madri sono lavate con una soluzione di  $\text{NaHCO}_3$  (40 ml) e seccate su  $\text{MgSO}_4$ . Il solvente viene rimosso per evaporazione sotto vuoto.

**5b:** Resa: 83%;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.34-1.37 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1.59-1.62 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1.71 (s, 6H,  $2\text{CH}_3$ ), 3.90 (s, 2H,  $2\text{CH}$ ).

**6b:** Resa: 96%;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 0.83-1.02 (m, 4H,  $2\text{CH}_2$  ciclopropano), 1.35-1.42 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1.96-2.03 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 4.04 (s, 2H, CH).

### Sintesi del catalizzatore $\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)$

Una sospensione contenente Rutenio (III) cloridrato (7.65 mmol) in MeOH (250 ml), è scaldata a riflusso per 5 minuti in ambiente di gas inerte ( $\text{N}_2$ ). Dopo raffreddamento a temperatura ambiente si aggiunge trifenilfosfina (52.2 mmol) e si scalda a riflusso per 3 h. Raffreddando la miscela di reazione a temperatura ambiente, si forma un precipitato che viene filtrato sotto vuoto in ambiente di gas inerte ( $\text{N}_2$ ), lavato con  $\text{Et}_2\text{O}$  anidro degassato (100 ml) ed successivamente lavorato con esano degassato (6 x 10 ml). Resa 90 %.

### Procedura generale delle reazioni di decomposizione dei composti endoperossidici del fulvene insaturi (**5a-7a**) e saturi (**5b** e **6b**), catalizzate da $\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)$

Ad una soluzione dell'opportuno endoperossido (**5a-7a**, **5b**, **6b**) (4.72 mmol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (30 ml), è aggiunto il catalizzatore  $\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)$ . La miscela di reazione è lasciata in ambiente di gas inerte ( $\text{N}_2$ ) a  $-40^\circ\text{C}$  per 4 h.

**21:** Resa: 17%;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 0.79-0.85 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 5.57 (d, 1H, CH,  $J = 8.70$  Hz), 5.64-5.69 (m, 1H, CH), 6.01-6.05 (m, 1H, CH), 6.43 (d, 1H, CH,  $J = 6.81$  Hz).

**22:** Resa: 19%;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 2.17 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.38 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.46 (s br, 1H, OH), 5.24-5.28 (m, 1H, CH), 6.24 (d, 1H, CH,  $J = 7.52$  Hz).

**23:** Resa: 19%;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.39-1.47 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1.67 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.98-2.05 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.42 (s, 1H, CH), 4.47 (s, 1H, CH), 5.17 (s, 1H, OH), 5.29 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ).

**24:** Resa: 12%;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.04-1.11 (m, 4H,  $2\text{CH}_2$  ciclopropano), 2.48-2.53 (m, 2H, 2CH), 2.83-2.89 (m, 2H, 2CH).

**25:** Resa: 16%;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.12-1.20 (m, 2H,  $\text{CH}_2$  ciclopropano), 1.24-1.32 (m, 2H,  $\text{CH}_2$  ciclopropano), 4.09 (d, 1H, CH,  $J = 7.54$  Hz), 4.56 (s br, 1H, OH), 6.38 (d, 1H,  $=\text{CH}$ ,  $J = 7.80$  Hz), 7.60-7.64 (m, 1H,  $=\text{CH}$ ).

**26:** Resa: 14%;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.73 (s, 4H,  $2\text{CH}_2$  ciclopropano), 9.81 (s, 2H, 2CH);  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 23.4 ( $2\text{CH}_2$ ), 52.7 (C), 197.3 (2CH).

**27:** Resa: 10%;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.03-1.11 (m, 2H,  $\text{CH}_2$  ciclopropano), 1.23-1.30 (m, 2H,  $\text{CH}_2$  ciclopropano), 2.05-2.11 (m, 2H,  $\text{CH}_2$  ciclopentano), 2.30-2.37 (m, 2H,  $\text{CH}_2$  ciclopentano), 3.70-3.74 (m, 1H, CH), 4.84 (s, 1H, OH).

**28:** Resa: 27%;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3.76 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 4.58-4.61 (m, 1H, CH), 5.83-5.86 (m, 1H, CH), 5.98-6.02 (m, 1H, CH), 6.45-6.49 (m, 1H, CH), 6.91 (d, 1H, CH,  $J = 7.81$  Hz).

### **Sintesi della trifenilfosfina deuterata [ $\text{P}(\text{Ph}_3\text{-d}_5)$ ]**

Ad una sospensione di Mg (61.71 mmol) in  $\text{Et}_2\text{O}$  anidro (140 ml) è aggiunto, goccia a goccia, una soluzione di bromo benzene- $\text{d}_5$  in  $\text{Et}_2\text{O}$  (20 ml). La miscela di reazione è messa in un bagno ad ultrasuoni, fino a completa scomparsa del Mg. Dopo raffreddamento, viene aggiunta, goccia a goccia, una soluzione di  $\text{PCl}_3$  (20.57 mmol) in  $\text{Et}_2\text{O}$  anidro (20 ml). La sospensione è lasciata raffreddare a temperatura ambiente e successivamente si aggiunge una soluzione di HCl al 10%. La fase organica è lavata con una soluzione di  $\text{NaHCO}_3$  al 10% (40 ml), seccata su  $\text{MgSO}_4$  ed evaporata sotto vuoto. Il solido ottenuto è ricristallizzato da EtOH. Resa: 67%.

### **Sintesi di 2-alcildieni-3-ciclopentanoni (37-46) e degli epossidi fulvenici (29-36)**

Ad una soluzione dell'opportuno fulvene (**5-11**) (0.734 mmol) in  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$  (3 ml) è aggiunto qualche cristallo di TPP. Un pallone pieno di  $\text{O}_2$  è fissato sul tappo e la miscela di reazione è agitata  $-78^\circ\text{C}$  sotto una lampada UV, per 3 h. Successivamente viene aggiunta [ $\text{P}(\text{Ph}_3\text{-d}_5)$ ] (0.734 mmol) e la miscela di reazione viene lasciata in



agitazione a -40°C in ambiente di gas inerte per 3 h. Si effettua un monitoraggio tramite NMR, per verificare la percentuale di monoepossido che si è formato durante la reazione, poi si procede alla purificazione dei composti attraverso una cromatografia su colonna di silice, utilizzando l'opportuno eluente.

**29:**  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ )  $\delta$ : 1.81 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.98 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 4.05 (s, 1H, CH epossido), 4.32 (s, 1H, CH epossido), 6.31 (d, 1H,  $=\text{CH}$ ,  $J = 7.81$  Hz) 6.21-6.24 (m, 1H,  $=\text{CH}$ ).

**30:**  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ )  $\delta$ : 0.10-0.31 (m, 4H,  $2\text{CH}_2$ ), 2.28 (d, 1H, CH epossido,  $J = 6.73$  Hz), 3.20-3.24 (m, 1H, CH epossido), 5.60-5.63 (m, 2H,  $2\text{CH}$ ).

**31:**  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ )  $\delta$ : 3.85 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 4.02 (s, 2H, CH epossido), 5.83-5.86 (m, 1H,  $=\text{CH}$ ), 6.47-6.49 (m, 1H,  $=\text{CH}$ ), 6.57 (s, 1H, CH), 7.09 (d, 2H, ar,  $J = 5.76$  Hz), 7.19 (d, 2H, ar,  $J = 5.76$  Hz).

**32:**  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ )  $\delta$ : 3.87 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 4.05 (s, 2H, CH epossido), 5.89-5.93 (m, 1H,  $=\text{CH}$ ), 6.55 (s, 1H, CH), 6.78-6.83 (m, 1H,  $=\text{CH}$ ), 7.14 (d, 2H, ar,  $J = 7.30$  Hz), 7.23 (d, 2H, ar,  $J = 7.30$  Hz).

**33:**  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ )  $\delta$ : 2.41 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 4.13 (s, 1H, CH epossido), 4.25 (s, 1H, CH epossido), 6.30-6.32 (m, 1H,  $=\text{CH}$ ), 6.49-6.51 (m, 1H,  $=\text{CH}$ ), 6.72 (s, 1H, CH), 7.20-7.23 (m, 2H, ar), 7.36-7.38 (m, 2H, ar).

**34:**  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ )  $\delta$ : 2.37 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 4.20 (s, 1H, CH epossido), 4.48 (s, 1H, CH epossido), 6.39-6.42 (m, 1H,  $=\text{CH}$ ), 6.50-6.52 (m, 1H,  $=\text{CH}$ ), 6.74 (s, 1H, CH), 7.29-7.31 (m, 2H, ar), 7.45-7.48 (m, 2H, ar).

**35:**  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ )  $\delta$ : 1.54-1.76 (m, 4H,  $2\text{CH}_2$  ciclopentano), 2.23-2.50 (m, 4H,  $2\text{CH}_2$  ciclopentano), 4.03 (s, 1H, CH epossido), 4.15 (s, 1H, CH epossido), 6.34-6.36 (m, 1H,  $=\text{CH}$ ), 6.47-6.50 (m, 1H,  $=\text{CH}$ ).

**36:**  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ )  $\delta$ : 4.35-4.38 (m, 2H,  $2\text{CH}$  epossido), 6.47-6.51 (m, 2H,  $=\text{CH}$ ), 7.24-7.39 (m, 10H, ar).

**37:** Resa: 39%;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ )  $\delta$ : 1.94 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.25 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.90 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 6.09 (d, 1H,  $=\text{CH}$ ,  $J = 7.50$  Hz), 6.71-7.75 (m, 1H,  $=\text{CH}$ );  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ )  $\delta$ : 21.1 ( $\text{CH}_3$ ), 26.3 ( $\text{CH}_3$ ), 45.7 ( $\text{CH}_2$ ), 127.2 ( $\text{HC}=\text{}$ ), 134.3 ( $=\text{CH}$ ), 134.6 ( $\text{C}=\text{}$ ), 164.9 ( $\text{C}-(\text{CH}_3)_2$ ), 197.5 ( $\text{C}=\text{O}$ ). IR: 1711.

**38:** Resa: 41%;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ )  $\delta$ : 0.41-0.59 (m, 4H,  $2\text{CH}_2$  ciclopropano), 3.12 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 5.26 (d, 1H,  $=\text{CH}$ ,  $J = 5.76$  Hz), 5.52-5.56 (m, 1H,  $=\text{CH}$ );  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ )  $\delta$ : 22.3 ( $2\text{CH}_2$ ), 33.0 ( $\text{CH}_2$  ciclopropano), 120.7 ( $=\text{CH}$ ), 137.9 ( $\text{HC}=\text{}$ ), 210.2 ( $\text{C}=\text{O}$ ); IR: 1713.

**39:** Resa: 46%;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ )  $\delta$ : 2.98 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.81 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 6.44-6.47 (m, 1H,  $=\text{CH}$ ), 6.52 (s, 1H,  $\text{CH}$ ), 6.82-6.84 (m, 2H, ar), 7.23-7.26 (m, 1H,  $=\text{CH}$ ), 7.53 (d, 2H, ar,  $J = 8.40$  Hz);  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ )  $\delta$ : 40.3 ( $\text{CH}_2$ ), 55.8 ( $\text{OCH}_3$ ), 113.8 (2 C ar), 128.1 (3 C ar), 131.9 ( $=\text{CH}$ ), 132.4 ( $\text{HC}=\text{}$ ), 134.5 ( $=\text{C}$ ), 140.0 ( $=\text{C}$ ), 160.1 (1 C ar), 196.6 ( $\text{C}=\text{O}$ ); IR: 1711.

**40:** Resa 24%;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ )  $\delta$ : 3.04 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.82 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 6.18-6.20 (m, 1H,  $=\text{CH}$ ), 6.62-6.24 (m, 1H,  $=\text{CH}$ ), 6.89 (d, 2H, ar,  $J = 6.70$  Hz), 7.02 (s, 1H,  $\text{CH}$ ), 8.11 (d, 2H, ar,  $J = 6.70$  Hz);  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ )  $\delta$ : 43.2 ( $\text{CH}_2$ ), 54.1 ( $\text{OCH}_3$ ), 114.2 (2 C ar), 127.8 (3 C ar), 132.5 ( $=\text{CH}$ ), 133.0 ( $\text{HC}=\text{}$ ), 134.0 ( $=\text{C}$ ), 140.9 ( $=\text{C}$ ), 159.8 (1 C ar), 196.1 ( $\text{C}=\text{O}$ ); IR: 1717.

**41:** Resa: 59%;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ )  $\delta$ : 2.53 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.09 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 6.24-6.28 (m, 1H,  $=\text{CH}$ ), 6.73-6.76 (m, 1H,  $=\text{CH}$ ), 7.21 (d, 2H, ar,  $J = 8.70$  Hz), 7.32 (s, 1H,  $\text{CH}$ ), 7.83 (d, 2H, ar,  $J = 8.70$  Hz);  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ )  $\delta$ : 24.3 ( $\text{CH}_3$ ), 45.2 ( $\text{CH}_2$ ), 129.6 (2C ar), 132.1 (2C ar), 133.5 (1C ar), 134.5 ( $\text{HC}=\text{}$ ), 135.6 ( $=\text{CH}$ ), 140.0 ( $\text{CH}$ ), 142.4 ( $\text{C}=\text{}$ ), 196.1 ( $\text{C}=\text{O}$ ); IR: 1707.

**42:** Resa: 27%;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ )  $\delta$ : 2.43 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.98 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 6.50-6.53 (m, 1H,  $=\text{CH}$ ), 7.13 (s, 1H,  $\text{CH}$ ), 7.25 (d, 2H, ar,  $J = 8.62$  Hz), 7.35-7.37 (m, 1H,  $=\text{CH}$ ), 7.51 (d, 2H, ar,  $J = 8.62$  Hz);  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ )  $\delta$ : 24.5 ( $\text{CH}_3$ ), 41.9 ( $\text{CH}_2$ ), 120.8 (2C ar), 130.0 (2C ar), 130.6 (1C ar), 131.9 ( $\text{HC}=\text{}$ ), 132.6 ( $=\text{CH}$ ), 134.4 ( $\text{CH}$ ), 135.6 ( $\text{C}=\text{}$ ), 200.4 ( $\text{C}=\text{O}$ ); IR: 1719.

**43:** Resa: 30%;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ )  $\delta$ : 2.08 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.50-2.54 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.86-3.91 (m, 4H,  $2\text{CH}_2$ ), 6.31-6.35 (m, 2H, 2  $\text{HC=}$ );  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ )  $\delta$ : 19.2 ( $\text{CH}_3$ ), 32.1 ( $\text{CH}_2$ ), 41.3 ( $\text{CH}_2$ ), 60.9 ( $\text{CH}_2$ ), 129.5 ( $=\text{CH}$ ), 133.9 ( $\text{HC=}$ ), 150.9 ( $\text{C=}$ ), 196.3 ( $\text{C=O}$ ); IR: 1707.

**44:** Resa: 21%;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ )  $\delta$ : 2.25 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.61-2.63 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.90-3.94 (m, 4H,  $2\text{CH}_2$ ), 6.62-6.64 (m, 1H,  $=\text{CH}$ ), 6.69-6.72 (m, 1H,  $=\text{CH}$ );  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ )  $\delta$ : 22.0 ( $\text{CH}_3$ ), 36.6 ( $\text{CH}_2$ ), 42.0 ( $\text{CH}_2$ ), 61.2 ( $\text{CH}_2$ ), 132.5 ( $=\text{CH}$ ), 134.1 ( $\text{HC=}$ ), 160.3 ( $\text{C=}$ ), 197.6 ( $\text{C=O}$ ); IR: 1710.

**45:** Resa: 25%;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ )  $\delta$ : 1.62-1.70 (m, 4H,  $2\text{CH}_2$  ciclopentano), 2.41-2.50 (m, 2H,  $\text{CH}_2$  ciclopentano), 2.68-2.73 (m, 2H,  $\text{CH}_2$  ciclopentano), 2.79-2.83 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 6.12-6.14 (m, 1H,  $=\text{CH}$ ), 6.63-6.65 (m, 1H,  $=\text{CH}$ );  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ )  $\delta$ : 30.1 ( $2\text{CH}_2$  ciclopentano), 34.3 ( $2\text{CH}_2$  ciclopentano), 40.0 ( $\text{CH}_2$ ), 132.5 ( $=\text{CH}$ ), 133.0 ( $=\text{CH}$ ), 133.7 ( $\text{C=}$ ), 174.2 ( $\text{C=}$ ), 196.1 ( $\text{C=O}$ ); IR: 1711.

**46:** Resa: 49%; p.f. 86-88°C;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ )  $\delta$ : 3.03 (2, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 6.13-6.18 (m, 1H,  $=\text{CH}$ ), 6.79-6.82 (m, 1H,  $=\text{CH}$ ), 7.34-7.45 (m, 10H, ar);  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ )  $\delta$ : 42.6 ( $\text{CH}_2$ ), 129.5 (2 C ar), 130.2 (6 C ar), 131.5 ( $\text{C=}$ ), 132.2 ( $\text{HC=}$ ), 133.0 ( $=\text{CH}$ ), 140.1 (2 C ar), 146.3 ( $\text{C=}$ ), 196.6 ( $\text{C=O}$ ); IR: 1715.

**Reazione di fotoossigenazione sui derivati a struttura fulvenica (9, 12-14) a dare  
rispettivamente i derivati 47-49, 50, 51-52, 53-55**

Ad una soluzione dell'opportuno fulvene (**9, 12-14**) (0.58 mmol) in  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ , è aggiunto qualche cristallo di TPP. Un pallone pieno di  $\text{O}_2$  è fissato sul tappo e la miscela di reazione è agitata -78°C sotto una lampada UV, per 3 h, poi viene lasciata a temperatura ambiente.

**47:**  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ )  $\delta$ : 1.34 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.01-2.10 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 2.59-2.63 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 6.14-6.17 (m, 1H,  $=\text{CH}$ ), 6.64-6.67 (m, 1H,  $\text{HC=}$ ), 9.57 (s, 1H,  $\text{CHO}$ ); IR: 1687, 1764, 3497.

**48:**  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ )  $\delta$ : 1.71 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.24-3.27 (m, 1H, CH epossido), 4.14 (s br, 1H, OH), 4.36-4.38 (m, 1H, CH), 5.00 (d, 2H,  $\text{CH}_2$ ,  $J = 8.90$  Hz), 5.60-5.64 (m, 2H,  $=\text{CH}$ ).

**49:**  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ )  $\delta$ : 1.71 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.15 (s, 1H, CH), 4.16 (s br, 1H, OH), 5.01-5.04 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 6.33 (d, 1H,  $=\text{CH}$ ,  $J = 5.64$  Hz), 6.76-6.79 (m, 1H,  $=\text{CH}$ ).

**50:**  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ )  $\delta$ : 3.59 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 7.06-7.17 (m, 4H, ar);

**51:**  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ )  $\delta$ : 2.25 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.96 (s, 1H, CH), 5.57-6.02 (m, 2H,  $\text{H}_3 + \text{H}_4$ ), 6.34-6.37 (m, 1H,  $\text{H}_5$ ), 6.78 (d, 1H,  $\text{H}_6$ ,  $J = 7.60$  Hz), 7.03-7.08 (m, 2H, ar), 7.12-7.18 (m, 2H, ar).

**52:**  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ )  $\delta$ : 2.09 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 4.47 (s, 1H, CH), 6.95-7.03 (m, 4H, ar).

**53:**  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ )  $\delta$ : 1.21 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.39 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.05 (s, 1H, CH), 4.21 (s, 1H, OH), 5.78-5.83 (m, 2H,  $\text{H}_4 + \text{H}_6$ ), 6.24-6.26 (m, 1H,  $\text{H}_5$ ), 6.49-6.52 (m, 1H,  $\text{H}_3$ ).

**54:**  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ )  $\delta$ : 1.39 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.59 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.89 (s, 1H, CH), 4.30 (s, 1H, OH), 5.67-5.69 (m, 1H,  $\text{H}_4$ ), 5.81-5.84 (m, 1H,  $\text{H}_6$ ), 6.21-6.24 (m, 1H,  $\text{H}_5$ ), 6.50-6.52 (m, 1H,  $\text{H}_3$ ).

**55:**  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ )  $\delta$ : 1.94 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.17 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 6.63-6.67 (m, 1H,  $=\text{CH}$ ), 6.71 (s, 1H, CH), 7.58-7.61 (m, 1H,  $=\text{CH}$ ), 9.68 (s, 1H, CHO).

**Reazione di termolisi sui composti 7-spirociclopropil-2,3-dioxabibciclo[2.2.1]eptano  
(6b)**

Una soluzione del perossido (**6b**) (6.42 mmol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  è riscaldata a  $80^\circ\text{C}$ . Dopo raffreddamento della soluzione il solvente viene rimosso.

**56:**  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ )  $\delta$ : 0.87-1.31 (m, 4H,  $2\text{CH}_2$  ciclopropano), 2.61-2.69 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.82-3.87 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.91 (s, 1H, CH), 9.88 (s, 1H, CHO); IR: 1642.

### Reazione di isomerizzazione di **56** indotta da reagenti chimici

Ad una soluzione, mantenuta in agitazione, del derivato **56** (3.96 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10 ml) si aggiunge, goccia a goccia, una soluzione di LiI in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10 ml). Dopo completa addizione, la miscela di reazione lasciata a temperatura ambiente per 40 minuti. La fase organica è lavata con una soluzione di tiosolfato di sodio (30 ml) e seccata su MgSO<sub>4</sub> anidro. Il solvente viene rimosso per evaporazione sotto vuoto.

**57**: <sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) δ: 1.86-2.02 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.15-2.21 (m, 1H, CH<sub>2</sub>), 2.62-2.74 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.92-3.09 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.34-3.49 (m, 1H, CH<sub>2</sub>), 7.25 (s, 1H, CH), 9.79 (s, 1H, CHO); <sup>13</sup>C-NMR (CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) δ: 16.5 (CH<sub>2</sub>), 22.8 (CH<sub>2</sub>), 30.2 (CH<sub>2</sub>), 41.5 (CH<sub>2</sub>), 44.4 (CH), 202.1 (C=O), 210.5 (C=O); IR: 1712, 1719.

### Reazione di fotolisi sul composto 7-spirociclopropil-2,3-dioxabicyclo[2.2.1]eptano (**6b**)

Una soluzione contenente il perossido (**6b**) (6.58 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> è posta sotto una lampada al magnesio per 2 h. Il solvente viene rimosso per evaporazione sotto vuoto. Si ottengono i derivati **26** e **27**, così come nella reazione di decomposizione catalizzata da Ru(II).

### BIBLIOGRAFIA

- [1] Minger T. L. et al, *Tetrahedron Letters*, **2002**, 43, 5357.
- [2] Nicolaou K. C. et al., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2005**, 44, 4490.
- [3] Suzuki M. et al., *J. Org. Chem.* **1989**, 54, 5292.
- [4] Erden I. et al., *Tetrahedron Letters*, **2006**, 62, 10676.
- [5] Erden I. et al., *Tetrahedron Letters*, **1993**, 34 (No 8), 1255.
- [6] Erden I. et al., *J. Org. Chem.*, **1995**, 60, 813.
- [7] Grubbs J. et al., *Org. Lett.*, **1999**, 1, 953.
- [8] Salaun J. et al., *Organic Syntheses Coll.*, **1988**, 6, 320.